Aus den Forschungslaboratorien
der Schering AG Berlin/Bergkamen
Department Herz-Kreislauf-Pharmakologie
Leiter: Dr. Gerda Mannesmann

Untersuchungen zur Wirkung von Indometacin und Paracetamol auf die Gefäßmuskulatur der isolierten Ratten-Aorta unter besonderer Berücksichtigung des Aufbaus und der Standardisierung einer geeigneten Versuchsanordnung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von Horst W. Goedecke
Tierarzt aus Greifswald
Berlin 1978/Journal-Nr. 951

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544713_0005

Aus den Forschungslaboratorien
der Schering AG Berlin/Bergkamen
Department Herz-Kreislauf-Pharmakologie
Leiter: Dr. Gerda Mannesmann

Untersuchungen zur Wirkung von Indometacin und Paracetamol auf die Gefäßmuskulatur der isolierten Ratten-Aorta unter besonderer Berücksichtigung des Aufbaus und der Standardisierung einer geeigneten Versuchsanordnung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von Horst W. Goedecke
Tierarzt aus Greifswald
Berlin 1978/Journal-Nr. 951

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Vorsitzender des FBR:	Prof. Dr. H.-H. Frey
Referent:	Prof. Dr. H.-H. Frey
Korreferent:	Prof. Dr. F. Neumann

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der Promotion: 10. November 1978

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
EINLEITUNG		6
METHODIK		9
1.	Versuchstiere	9
2.	Versuchsablauf	10
3.	Substanzen und Applikation	12
4.	Apparaturen und Meßgeräte	14
5.	Meßgrößen	16
6.	Statistische Planung und Auswertung	17
ERGEBNISSE		20
1.	Standardisierung des Versuchsmodells	20
1.1.	Standardisierung der Noradrenalin-induzierten Kontraktion	20
1.1.1	Einfluß der Nährlösung	20
1.1.2	Bezugswert k_M	24
1.1.3	Einfluß der Vorspannung	26
1.1.4	Stabilisatorzusatz der Noradrenalin-Lösungen	31
1.1.5	Vergleich von Kontraktionskraft und -geschwindigkeit	34
1.1.6	Erstellung einer Dosis-Wirkungs-Beziehung für Noradrenalin	39

1.2. Standardisierung der durch K^+-Depolarisation bewirkten Kontraktion 45

1.3. Folgerungen für die im weiteren angewandte Methodik 54

1.3.1 Katecholamin-induzierte Kontraktion 54

1.3.2 Durch K^+-Depolarisation bewirkte Kontraktion 54

2. Untersuchungen zur Gefäßwirkung von Indometacin und Paracetamol 56

2.1. Wirkung von Indometacin-Na und Paracetamol auf die Katecholamin-induzierte Kontraktion 56

2.1.1 Indometacin-Na 56

- Noradrenalin-induzierte Kontraktion 56
- Adrenalin-induzierte Kontraktion 63

2.1.2 Paracetamol 66

2.2. Wirkung von Indometacin auf die durch K^+-Depolarisation bewirkte Kontraktion 70

2.3. Wirkung einer vorherigen Inkubation mit Meclofenamsäure auf die durch Indometacin bewirkte Relaxation Noradrenalin-kontrahierter Aortenabschnitte 72

2.4. Wirkung von PGE_2 74

2.4.1 Wirkung von PGE_2 auf Noradrenalin-kontrahierte Aortenabschnitte 74

2.4.2 Wirkung von PGE_2 auf relaxierte Aortenabschnitte 74

2.4.3 Wirkung von PGE_2 auf die durch Indometacin bewirkte Relaxation Noradrenalin-kontrahierter Aortenabschnitte 75

2.5. Anhang: Tabellen zu den Abschnitten 2.1. bis 2.4. 79

DISKUSSION 84

1. Standardisierung des Versuchsmodells 84

2. Untersuchungen zur Gefäßwirkung von Indometacin und Paracetamol 88

ZUSAMMENFASSUNG 100

SUMMARY 103

LITERATUR 106

EINLEITUNG

Indometacin ist eine entzündungshemmende Substanz, deren therapeutische Wirkung mit großer Wahrscheinlichkeit auf einer Hemmung der körpereigenen Prostaglandin-Synthese beruht (VANE 1971).

Prostaglandine entstehen aus Arachidonsäure, wobei ein wichtiger Schritt in der Umwandlung dieser Ausgangssubstanz in die intermediären Prostaglandinendoperoxide G_2 und H_2 durch einen membrangebundenen Enzymkomplex, die Cyclooxygenase (= Prostaglandinsynthetase) besteht (HAMBERG et al. 1974). Dieser Schritt wird durch Indometacin gehemmt (BLACKWELL et al. 1977).

Mittels der Verminderung bzw. Ausschaltung der Wirkungen endogener Prostaglandine nach Gabe von Indometacin kann deren Rolle in der Regulation physiologischer Funktionen untersucht werden.

Nach heutigem Stand des Wissens stellen Prostaglandine eines der physiologischen, blutdrucksenkenden Prinzipien dar, indem sie die Wirkung von blutdrucksteigernden Überträgerstoffen gegenregulatorisc abschwächen. So steigt nach Applikation von Indometacin - zumindest unter bestimmten Bedingungen wie Narkose oder experimentell erzeugte Hypertonie - bei verschiedenen Spezies der Blutdruck an (DAVIS, HORTON 1972; GRODZINSKA et al. 1974; JANCZEWSKA, HERBACZINSK CEDRO 1974; PATAK et al. 1975; PUGSLEY et al. 1975; ROMERO et al. 1975; ROMERO, STRONG 1977[1,2]).

Eine Hauptdeterminante des peripheren Widerstands und damit auch des systemischen Blutdrucks sind die Gefäße des Splanchnicusgebiets (MELLANDER, JOHANNSON 1968). In einem gewissen Gegensatz zu der geschilderten Indometacin-Wirkung steht daher die zuerst von HORROBIN und MANKU (1974) gemachte Beobachtung, daß Indometacin die durch

Noradrenalin bewirkte Steigerung des Perfusionsdruckes im mesenterialen Gefäßbett der Ratte vermindert, was ebenfalls auf eine Hemmung der PG-Synthetase zurückgeführt wurde. Diese Beobachtung wurde von MALIK, RYAN und McGIFF (1976) und COUPAR und McLENNAN (1978) bestätigt.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu klären, ob die letztgenannten Befunde nur für die Mesenterialgefäße oder auch für nicht dem Mesenterialbereich zugehörige, arterielle Gefäße der Ratte Gültigkeit besitzen. Außer der Wirkung von Indometacin sollte auch die des die Prostaglandin-Synthetase nur wenig hemmenden, schwachen Analgetikums Paracetamol auf die Noradrenalin-induzierte Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur geprüft werden.

Für Untersuchungen pharmakologischer Einflüsse auf die Gefäße ist das in vitro-Modell "isolierte, spiralig geschnittene Ratten-Aorta" geeignet. Diese Versuchsanordnung wurde für die folgenden Untersuchungen eingesetzt, um auch gleichzeitig Aufschluß darüber zu erhalten, ob die Aorta bei Untersuchungen von Prostaglandinen und Prostaglandin-Synthetase-Hemmstoffen an Stelle von Präparationen peripherer Gefäße verwendet werden kann.

Eine erhöhte, extrazelluläre K^+-Ionen-Konzentration bewirkt durch Depolarisation der Zellmembran eine Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur. K^+-Ionen greifen im Gegensatz zu Noradrenalin an einem späteren Punkt des Erregungs-Kontraktionsmechanismus ein. Es sollte untersucht werden, ob die durch eine Erhöhung des K^+-Ionen-Gehalts der Nährlösung bewirkte Kontraktion der Aortenabschnitte durch Indometacin im gleichen Sinne wie die Noradrenalin-induzierte Kontraktion beeinflußt wird. Hiermit sollte geprüft werden, ob die Wirkung von Indometacin an den adrenergen ß-Rezeptoren oder an einer späteren

Stelle der Reaktionskette ansetzt.

Die Zahl der veröffentlichten Arbeiten zu der hier behandelten Thematik ist relativ begrenzt. Alle wesentlichen Literaturstellen werden in der Diskussion zitiert. Aus diesem Grunde wurde darauf verzichtet, eine einleitende Literaturübersicht zu geben.

METHODIK

1. Versuchstiere

Für die Untersuchungen wurden Ratten aus SPF-Zuchten eingesetzt. Es wurden nur ♂ Tiere verwendet, da bei ♀ Ratten Schwankungen des Plasmaspiegels von Geschlechtshormonen die Katecholamin-Empfindlichkeit der Aorten beeinflussen können (DE FELICE, JOINER, 1975).

Für die Versuche zur Entwicklung der Methodik wurden 264 Wistar-Ratten (Züchter: Hagemann, Extertal) und 122 Sprague-Dawley-Ratten (Züchter: Zentralinstitut für Versuchstierkunde, Hannover; Wiga, Sulzfeld) mit einem Gewicht von 215 - 420 g herangezogen. Für die Vergleiche mit Sprague-Dawley-Ratten wurden zusätzlich 22 Wistar-Ratten aus dem Zentralinstitut für Versuchstierkunde, Hannover im gleichen Gewicht genommen.

Die Haltung dieser Tiere erfolgte entweder in Gruppen von 15 Tieren in Makrolon-Käfigen (Typ IV) oder in Vierer-Gruppen in Drahtkäfigen in nicht klimatisierten Räumen. Sie kamen im allgemeinen binnen 1 Woche in den Versuch.

Für die Untersuchungen zur Wirkung von Indometacin und Paracetamol mußten wegen zeitweiliger Bezugsschwierigkeiten (strenge Anforderungen hinsichtlich der Gewichtsklasse) sowohl Wistar-Ratten (176 Tiere) als auch Sprague-Dawley-Ratten (80 Tiere) im Gewicht von 250 - 330 g von den oben genannten Züchtern verwendet werden.

Ihre Haltung bis zur Verwendung im Versuch erfolgte zu 2er- oder 3er-Gruppen in Drahtkäfigen zunächst in nicht klimatisierten Räumen (Versuchstiere für Untersuchung Abschnitt 2.1.1).

Nach Fertigstellung neuer Tierställe wurden die weiteren Tiere unter standardisierten Bedingungen gehalten (Raumtemperatur 24° C, relative Luftfeuchtigkeit 55 %, steril gefilterte Raumluft, 8-facher Luftwechsel/h, Licht über Außenfenster).

Alle verwendeten Tiere erhielten Standardfutter (Herilan®, Firma Eggersmann) und Trinkwasser ad libitum. Eine medikamentelle Behandlung erfolgte nicht.

2. Versuchsablauf

Die Ratten wurden durch einen Schlag auf den Kopf betäubt und danach teilweise entblutet. Dann wurden Brust- und Bauchhöhle eröffnet und die Aorta descendens bis zum Abzweig des Truncus coeliacus entnommen. Die weitere Präparation erfolgte in einer Schale, die mit Nährlösung von Zimmertemperatur, durchströmt mit Carbogen (95 % O_2, 5 % CO_2), gefüllt war. Die Aorta wurde hierin mit einer Irisschere zunächst von dem umgebenden Bindegewebe befreit und dann spiralig aufgeschnitten. Der Winkel zwischen Schnittführung und Achse wurde so gewählt, daß der resultierende Streifen eine Breite von ca. 3 - 4 mm besaß. Die Länge der Streifen betrug ca. 25 - 30 mm. Wurde mit proximalen und distalen Abschnitten gearbeitet (s.u.), so waren diese jeweils ca. 20 mm lang.

Anschließend wurden die Präparate nach einer Zufallsverteilung in die mit Nährlösung (Badtemperatur: 37° C) gefüllten und mit Carbogen durchströmten Organbäder eingebracht und befestigt. Die Präparation und das Einbringen der Streifen in die Organgefäße erfolgte so schnell wie möglich. Sie wurden an einem Ende mit einer Klammer an einem Kraftaufnehmer angehängt und am anderen Ende zunächst nur mit einer Klammer (Gewicht 400 mp) beschwert.

Nach mindestens 10 Minuten wurden sie mittels der zweiten Klammer im unteren Teil des Organgefäßes verankert und mit der halben Vorspannung belastet. Nach weiteren 15 Minuten wurden sie mit der gesamten Vorspannung belastet.

Da sich die Präparate unter Vorspannung zunächst dehnten, wurden sie etwa alle 10 Minuten wieder auf die entsprechende Vorbelastung gebracht. Nach 45 Minuten veränderte sich ihre Länge nicht mehr. Sie wurden danach noch weitere 30 Minuten (ohne Einwirkungen von außen) äquilibriert. Dann konnten die Zugabe von Noradrenalin bzw. der Austausch der Badflüssigkeit gegen eine K^+-reiche Nährlösung und im weiteren die Substanzprüfungen erfolgen.

Die Versuchsdauer betrug einschließlich der Präparation (ca. 45 Minuten) i.d.R. 8 bis 9 Stunden. Während dieser Zeit wurde keine Abnahme der Reaktionsfähigkeit der Präparate beobachtet.

Ein Teil der Versuchsbedingungen wurde je nach Fragestellung modifiziert. So wurden im ersten Versuchsabschnitt (Entwicklung der Methodik) verschiedene Nährlösungen, Vorspannungen und Noradrenalin-Stabilisatoren verwendet. Während bei einem Teil der Untersuchung pro Tier nur ein Aortenpräparat verwendet wurde, wurden bei späteren Tests pro Tier ein proximaler und ein distaler Aortenabschnitt präpariert.

In beiden Teilen der Untersuchung wurden unterschiedliche Rattenstämme eingesetzt.

Um eine bessere Übersichtlichkeit zu erreichen, erfolgen diesbezügliche Angaben zur Methodik jeweils unmittelbar vor der Beschreibung der Befunde der einzelnen Untersuchungen.

3. Substanzen und Applikation

Alle Nähr- und Testsubstanz-Lösungen wurden am jeweiligen Versuchstag neu zubereitet.

Zur Herstellung der Nährlösungen (Zusammensetzung siehe Seite 21) wurden folgende Grundsubstanzen benutzt:
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$; KCl; KH_2PO_4; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; NaCl; $NaHCO_3$; $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$; α-D-Glucose.

Mit Ausnahme von $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (chem. rein, DAB 7) besaßen die o.g. Substanzen p.A.-Qualität. KCl und $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ wurden als titrierte Lösungen verwendet.

Die Nährlösungen wurden vor Einbringen in die Badgefäße 40 Minuten mit Carbogen durchströmt, bis sie einen pH-Wert von 7,3 - 7,5 hatten.

Folgende Pharmaka und Feinchemikalien wurden verwendet:

Adrenalin (cryst., E. Merck)
L(+)Ascorbinsäure (cryst., reinst, E. Merck)
Indometacin (Merck, Sharp u. Dohme) wurde als Natriumsalz (hergestellt durch Dr. Biere, Schering AG) verwendet.
Meclofenamsäure (Parke Davis)
Natriumdisulfit (Natriumpyrosulfit p.a., E. Merck)
Natrium-Nitroprussid (p.A., E. Merck)

L-Noradrenalin-Tartrat, Monohydrat (Benzian AG)
Paracetamol (cryst., Ferak)
Prostaglandin E_2 (Fuji)

Alle Testsubstanzen außer Meclofenamsäure und Prostaglandin E_2 wurden in 0,9 %iger Kochsalzlösung gelöst.

Den Katecholaminlösungen wurden zusätzlich Ascorbinsäure oder Natriumdisulfit als Stabilisatoren zugesetzt, um eine Oxidation der Wirkstoffe zu verhindern. Der Gehalt an Ascorbinsäure betrug in der Noradrenalin-Stammlösung (10^{-5} g/ml Noradrenalin) 10^{-4} g/ml. In den Verdünnungsstufen dieser Lösung sank er entsprechend dem Noradrenalin-Gehalt. Der Gehalt an Natriumdisulfit betrug bei allen verwendeten Noradrenalin- und Adrenalin-Konzentrationsstufen einheitlich 10^{-3} g/ml. Entsprechend dem Verhältnis von Zugabe- und Badflüssigkeitsvolumen verringerte er sich in der Badflüssigkeit auf den hundertsten Teil dieser Konzentration; dies galt auch für die Ascorbinsäure.

Die Meclofenamsäure wurde mit einer geringen Menge 0,1 n-NaOH versetzt und dann unter Erwärmen in Krebs-Ringer-Lösung (Zusammensetzung siehe Seite 21) gelöst.

Prostaglandin E_2 wurde unter Zusatz einer äquimolaren Menge von $NaHCO_3$ ebenfalls in Krebs-Ringer-Lösung gelöst.

Die Aufbewahrung der Testsubstanzlösungen bis unmittelbar vor Applikation erfolgte - entsprechend ihrer zuvor geprüften, unterschiedlichen Empfindlichkeit gegenüber thermischen Einflüssen - bei folgenden Temperaturen:

Entzündungshemmstoffe	37° C
Natriumnitroprussid	37° C

PGE_2	ca. 22° C
Katecholamine	4° C

Die Herstellung und Aufbewahrung der Lösungsmittelkontrollen erfolgte entsprechend.

Alle Prüfsubstanz-Dosen und Kontrollen wurden in einem Volumen von 0,3 ml/30 ml Badflüssigkeit verabreicht.

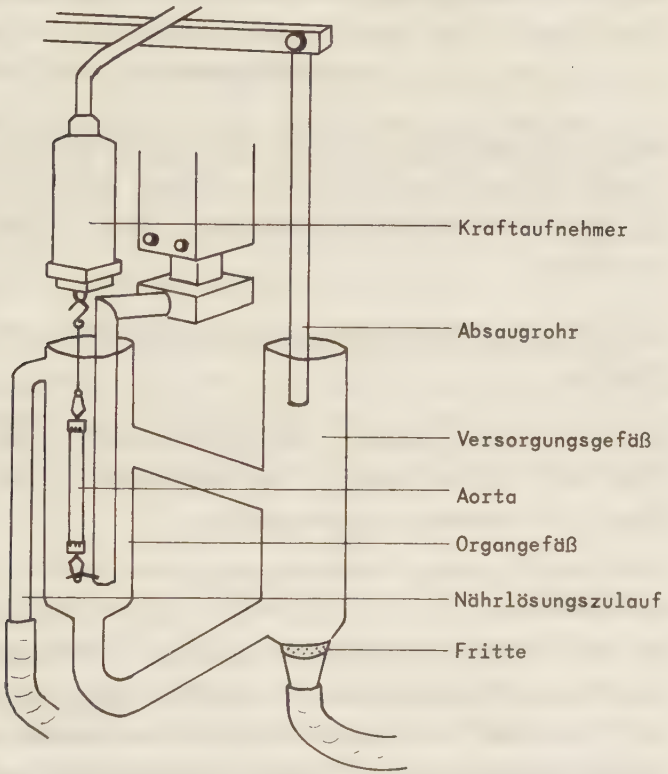
Nach Beendigung der Einwirkzeit einer Dosis wurden die verabreichten Substanzen aus den Organbädern und den Präparaten ausgewaschen. Dann folgte eine mindestens 15-minütige Ruhezeit. Im Anschluß hieran wurde die nächste Dosis appliziert.

4. Apparaturen und Meßgeräte

Die 30 ml Badflüssigkeit fassenden Organbäder (vergl. Abb. 1) bestanden aus dem eigentlichen Organgefäß und einem mit diesem nach dem Prinzip von kommunizierenden Röhren verbundenen Versorgungsgefäß. In diesem erfolgte während des Versuchs die Sättigung der Badflüssigkeit mit Carbogen über in den Boden eingelassene Fritten (Typ D_2, Firma Schott) und die Zugabe der Testsubstanz. Zwischen beiden Gefäßen bestand ein durch den Carbogen-Strom aufrechterhaltener Kreislauf, der für eine rasche Durchmischung der Flüssigkeit innerhalb weniger Sekunden sorgte. Durch diese Gefäßanordnung konnte erreicht werden, daß die Registrierung der Meßparameter ohne Erschütterung durch Luftblasen oder Manipulationen bei Zugaben erfolgte.

Alle Teile der Organbäder bestanden aus Glas; die Teile der Präparathalterungen, die mit der Nährlösung in Berührung kommen konnten, waren aus mit Elektrolytgold überzogenem Nirosta-Stahl

Abbildung 1: Organbad und Kraftaufnehmer



hergestellt. Die Halterungen waren mit den Kraftaufnehmern durch Mersilenfäden verbunden.

Die vier Organbäder befanden sich in einem Wasserbad, dessen Temperatur mit einem Durchlaufthermostaten ("Thermomant", Firma Braun/Melsungen, Genauigkeit ± 0,015° C) konstant auf 37° C gehalten wurde.

Die Testsubstanzen wurden durch Zulauf neuer, ebenfalls im Wasserbad vorgewärmter Nährlösung in das Organgefäß bei gleichzeitigem Absaugen von Badflüssigkeit aus dem Versorgungsgefäß ausgewaschen. Dieser Vorgang wurde jeweils mehrmals wiederholt und über einen elektronischen Zeitgeber simultan gesteuert.

Die Kontraktionskraft der Aorten wurde fortlaufend über isometrische Kraftaufnehmer (UC 4, Firma Statham) und Vorverstärker mit einem 4-Kanal-Kompensationsschreiber (KA-41, Firma Rikadenki) registriert.

Die pH-Wert-Bestimmung erfolgte mit einem pH-Meter (pH 27, Firma Knick).

Alle ohne Herstellerangabe aufgeführten Apparaturen und Geräte wurden nach eigenen Angaben in den technischen Werkstätten der Schering AG entwickelt und hergestellt.

5. Meßgrößen

Bei jedem Versuch wurde entweder die nach 1×10^{-7} g/ml Noradrenalin oder die nach K^+-Depolarisation entwickelte Kontraktionskraft k_M [p] bestimmt. Ihre absolute Höhe galt als Ausdruck des maximalen Kontraktionsvermögens der einzelnen Streifen. Sie wurde daher als Ausgangswert = 100 %-Wert gewählt. Die nach Gabe anderer Dosen bzw. Testsubstanzen entwickelte Kontraktionskraft k wurde in p bestimmt und in Prozent von k_M angegeben.

Zur Beurteilung der Kontraktionsgeschwindigkeit wurde die Zeit $t_{k/2}$ [sec] gemessen, innerhalb derer 50 % von k_M bzw. k entwickelt wurden.

Zur Beurteilung der Relaxationsgeschwindigkeit wurde die Zeit $t_{R/2}$ [sec] gemessen, innerhalb derer 50 % der durch eine Testsubstanzdosis bewirkten Relaxation ($k - k_M$) erfolgten.

6. Statistische Planung und Auswertung

An einem Versuchstag konnten 4 Aorten-Präparate simultan eingesetzt werden. Diese wurden den unterschiedlichen Behandlungen randomisiert zugeteilt. War pro Tag nur eine Behandlung möglich (Versuche mit unterschiedlichen Nährlösungen), so wurden die Behandlungen über die Versuchstage randomisiert.

Soweit pro Tier 2 (1 proximaler und 1 distaler) Aortenabschnitte verwendet wurden, wurden diese den unterschiedlichen Behandlungen so zugeteilt, daß auf jede gleich viele proximale und distale Abschnitte entfielen. Diese durften jedoch nicht von gleichen Tieren stammen.

Wenn Dosis-Wirkungs-Beziehungen erstellt wurden, erfolgte die Applikation der Dosen in steigender Reihenfolge. Die Dosen wurden nicht randomisiert, da in diesem Falle Überhangseffekte von zuerst verabreichten, hohen, wirksamen Dosen auf noch nicht wirksame, niedrige Dosen u.U. nicht mit letzter Sicherheit zu vermeiden gewesen wären. Diesbezügliche Ausnahmen werden im Ergebnisteil besonders erwähnt.

Pro Dosis wurden die Mittelwerte der Meßgrößen sowie die Standardabweichungen der Mittelwerte (SE) errechnet.

Die statistische Analyse der Meßparameter sollte bei Untersuchungsreihen eine objektive und vergleichbare Beurteilung der Versuchsergebnisse ermöglichen. Deshalb wurde Wert auf ein einheitliches Analysemodell gelegt.

Für den Vergleich verschiedener Behandlungen unter Berücksichtigung anderer Einflußgrößen (Faktoren) als der zu untersuchenden Zielgröße werden in der Statistik die linearen Modelle eingesetzt. Dabei werden die Meßergebnisse durch die lineare Überlagerung der Effekte eines oder mehrerer Faktoren erklärt. Besteht eine Messung bei einer Versuchseinheit (Aortenpräparat) durch konsekutive Dosierung aus mehreren Einzelmessungen, die nicht per se als unabhängig aufgefaßt werden können, müssen diese insgesamt in einer multivariaten Analyse verglichen werden. Als praktikable und gut erprobte statistische Methoden wurden die multivariaten bzw. univariaten Varianzanalysen (MANOVA bzw. ANOVA) ausgewählt. Diese Methoden reduzieren sich bei nur 1 Einzelmessung auf den 2-Stichproben-t-Test (Vergleich Behandlung gegen Kontrolle) bzw. auf den t-Test für verbundene Stichproben (Vergleich Vorwert gegen Nachwert) nach Student.

Für die Untersuchung von paarweisen Unterschieden bei mehr als zwei Behandlungen wurden bei signifikantem Globaltest (ANOVA) multiple Vergleiche nach Scheffé (ungleiche Stichprobenumfänge) oder nach Tukey (gleiche Stichprobengröße) durchgeführt.

Alle Berechnungen wurden unter Verwendung von Statistik-Computer-Programmen auf einer Rechenanlage (Typ CHB 6640) bzw. auf einem elektronischen Kleinrechner (HP 97) durchgeführt.

Ergaben sich Signifikanzschwellen von $p \leq 0,05$, so wurden die Unterschiede ohne weitere Kennzeichnung als statistisch signifikant bezeichnet. Lediglich höhere Signifikanzschwellen ($p \leq 0,01$, $p \leq 0,001$) wurden gesondert angegeben.

ERGEBNISSE

1. Standardisierung des Versuchsmodells

1.1. Standardisierung der Noradrenalin-induzierten Kontraktion

Die hier aufgeführten Untersuchungen hatten zum Ziel, solche Versuchsbedingungen zu finden, unter denen die Präparate nach Gabe einer gefäßverengenden Substanz ihr maximales Kontraktionsvermögen entwickeln. Dabei sollten nach mehrfacher, konsekutiver Dosierung möglichst geringe Ermüdungserscheinungen auftreten.

Die im folgenden gewählte Reihenfolge der Experimente entspricht nicht dem zeitlichen Ablauf, sondern richtet sich nach der Wichtigkeit der mit den einzelnen Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse.

Daraus erklärt sich, daß bei der Untersuchung zum Einfluß unterschiedlicher Vorspannungen Tyrode-Lösung verwandt wurde, obwohl bereits zuvor im Text Krebs-Ringer-Lösung als optimale Nährlösung bezeichnet wird.

1.1.1. Einfluß der Nährlösung (Tabelle 1)

Versuchsbedingungen

Testpräparat	:	Aortenstreifen von Wistar-Ratten
Vorspannung	:	2,5 p
Testsubstanz	:	Noradrenalin + Ascorbinsäure
Dosierung	:	Dosis 1 - 4 : jeweils $2{,}5 \times 10^{-9}$ g/ml
		Dosis 5 - 6 : jeweils 1×10^{-7} g/ml

Nährlösung : a) Krebs-Ringer-Lösung (nach ALTURA u. ALTURA, 1970)
b) Tyrode-Lösung (nach TURNER, 1965)
c) modifizierte Organbadlösung (nach KREYE, 1974)

Die Lösungen hatten folgende Zusammensetzungen (mM):

Rp	a	b	c
NaCl	118,0	119,75	125,0
KCl	4,7	4,75	4,7
$CaCl_2 \times 2H_2O$	2,5	2,38	1,8
$MgSO_4 \times 7H_2O$	1,2	0,60	
$MgCl \times 6H_2O$			1,2
KH_2PO_4	1,2	0,60	
NaH_2PO_4			1,2
$NaHCO_3$	25,0	25,00	25,0
Glucose	10,0	4,54	5,5

An jedem Tag wurde eine Nährlösung getestet. Die Reihenfolge der Nährlösungen an den verschiedenen Tagen wurde randomisiert.

Befunde

Der Vergleich der Wirkungen der drei getesteten Nährlösungen zeigte, daß das maximale Kontraktionsvermögen der Aortenstreifen bei Verwendung von Krebs-Ringer-Lösung am größten war (k_M : 1,40 ± 0,05 p, Tyrode: 1,14 ± 0,07 p, Organbadlösung nach Kreye: 1,14 ± 0,07 p - vergleiche Tabelle 1).

Bei allen Gruppen war die im Vergleich zu den Dosen 2 - 4 geringe Größe von k sowie ein verlängertes $t_{k/2}$ nach Gabe der 1. Dosis auffallend. Gleiche Beobachtungen wurden bei weiteren Untersuchungen

Tabelle 1: Die Wirkung unterschiedlicher Nährlösungen auf die Kontraktionskraft und -geschwindigkeit spiralig geschnittener Ratten-Aortenstreifen nach mehrmaliger Gabe von Noradrenalin.

Dosis		Krebs-Ringer (N = 12)				Tyrode (N = 10)				Organbadlsg. n. Kreye (N = 9)			
		k [% k_M]		$t_{k/2}$ [s]		k [% k_M]		$t_{k/2}$ [s]		k [% k_M]		$t_{k/2}$ [s]	
Nr.	g/ml	MW ± SE											
5 u. 6 (MW)*	10^{-7}	100	1)	44	3	100	2)	41	4	100	3)	47	4
1	$2{,}5 \times 10^{-9}$	65	2	50	5	58	5	44	6	59	5	46	5
2	$2{,}5 \times 10^{-9}$	76	2	45	2	68	4	41	4	76	5	41	2
3	$2{,}5 \times 10^{-9}$	74	2	42	3	75	3	41	3	66	5	42	1
4	$2{,}5 \times 10^{-9}$	69	2	46	3	73	3	45	4	61	5	49	4

1) $k_M = 1{,}40 \pm 0{,}05$ p 2) $k_M = 1{,}14 \pm 0{,}07$ p 3) $k_M = 1{,}14 \pm 0{,}07$ p

* Pro Aortenstreifen wurde der Mittelwert aus 5. und 6. Dosis errechnet.

gemacht, bei denen nacheinander gleiche Dosen von Noradrenalin getestet wurden (vergleiche Tabellen 3,4). Demnach mußte das kontraktile System der Aorten erst durch eine Initialdosis von Noradrenalin kontrahiert werden, bevor im weiteren Verlauf des Versuchs annähernd gleiche Kontraktionen nach gleichen Dosen erreicht wurden. Dieser Umstand wurde bei allen folgenden Untersuchungen berücksichtigt und die 1. Dosis ($2{,}5 \times 10^{-9}$ g/ml Noradrenalin) als Aktivierungsdosis nicht gewertet.

Bei den Dosen 2 - 4 wurden bei Krebs-Ringer-Lösung und Tyrode Schwankungen von k und $t_{k/2}$ von ca. 10 % beobachtet (vergleiche Tabelle 1). Dieser Bereich gilt jedoch in biologischen Untersuchungen der hier beschriebenen Art als tolerable Fehlerbreite. Bei der Organbadlösung nach Kreye war allerdings ein Abfall der Kontraktionskraft um ca. 20 % sowie ein Anstieg von $t_{k/2}$ um ebenfalls ca. 20 % zu beobachten.

Da bei einem Modell zur Bestimmung kontrahierender Wirkungen die Erzielung einer möglichst großen Kontraktionskraft (geringeres Fehlerrisiko) wünschenswert ist, wurde für spätere Untersuchungen Krebs-Ringer-Lösung als Badflüssigkeit verwendet.

1.1.2 Bezugswert k_M

Bei den zuvor angeführten Untersuchungen wurden jeweils als 5. und 6. Dosis 1×10^{-7} g/ml Noradrenalin verabreicht. Von dieser Konzentration war bekannt, daß sie eine maximale Kontraktion der Präparate bewirkte. Der Mittelwert beider aufeinanderfolgender Kontraktionen diente als Bezugsgröße für die kontrahierende Wirkung anderer, zuvor verabreichter Dosen.

Bei der angewandten Reihenfolge der Applikation wäre jedoch eine eventuelle, gefäßschädigende Wirkung einer Prüfsubstanz nicht erkennbar und würde zudem den Bezugswert k_M verfälschen. Es erschien daher sinnvoll, k_M bereits zu Beginn des Versuchs, nach Gabe der Aktivierungsdosis, zu bestimmen.

Geklärt werden mußte, ob eine zweimalige Bestimmung des maximalen Kontraktionsvermögens jedes Präparats mit nachfolgender Bildung des Mittelwerts aus beiden Messungen zur Vermeidung hoher Streuungen erforderlich ist oder ob eine einmalige Bestimmung ausreicht. Als Kriterium hierfür diente ein Vergleich der auf beide erwähnten Arten bestimmten Mittelwerte und deren Standardabweichungen.

Versuchsbedingungen

Testpräparat	:	Aortenstreifen von Wistar-Ratten
Anzahl	:	N = 16
Nährlösung	:	Krebs-Ringer
Vorspannung	:	2,5 p
Testsubstanz	:	Noradrenalin + Natriumdisulfit
Dosierung	:	Dosis 1 : $2{,}5 \times 10^{-9}$ g/ml
		Dosis 2 - 3 : jeweils 1 $\times 10^{-7}$ g/ml

Befunde

Es ergaben sich folgende Mittelwerte:

Dosis		k_M	
Nr.	g/ml	MW p ±	SE
1		Aktivierungsdosis	
2	10^{-7}	1,22	0,06
3	10^{-7}	1,25	0,06
Ø 2,3		1,23	0,04

Wie ersichtlich, bestand zwischen den Mitteln aus den Meßwerten der 2. bzw. 2. und 3. Dosis kein praktisch bedeutsamer Unterschied. Angesichts der kleinen Mittelwertsfehler (SE) schien es vertretbar, eine nur unwesentlich größere Unschärfe bei k_M in Kauf zu nehmen, um dafür eine Erhöhung der Testkapazität um täglich eine Dosis für die Prüfsubstanzen zu erreichen.

War der Stichprobenumfang mit N = 16 bei diesem Versuch auch sehr groß, so wurden doch ähnliche Ergebnisse auch bei weniger umfangreichen Stichproben von N = 11 bzw. 12 erhalten (vergleiche Tabelle 2 b, Einfluß unterschiedlicher Vorspannungen). Bei diesen Versuchen wurde k_M am Ende einmal aus den Meßwerten der letzten Dosis allein und zum anderen aus den Meßwerten der beiden letzten Dosen ermittelt. Auch hier waren die Mittelwerte und deren Standardabweichungen nach nur einmaliger Ermittlung von k_M praktisch gleich wie die nach zweimaliger Ermittlung.

Bei allen folgenden Versuchen wurde daher die Bezugsgröße k_M mittels einer einmaligen Dosis von 10^{-7} g Noradrenalin/ml Badflüssigkeit vor Gabe der Prüfsubstanz und nach Gabe der Aktivierungsdosis bestimmt.

1.1.3 Einfluß der Vorspannung (Tabelle 2 a, b; 3)

Versuchsbedingungen

Testpräparat : Aortenstreifen von a) Wistar-Ratten
b) Sprague-Dawley-Ratten

Nährlösung : Tyrode

Testsubstanz : a) Noradrenalin + Ascorbinsäure
b) Noradrenalin + Natriumdisulfit

Dosierung : a) 1. Versuch Dosis 1 - 5 : jeweils 2,5 x 10^{-9} g/ml
Dosis 6 : jeweils 1 x 10^{-7} g/ml
2. Versuch Dosis 1 - 4 : jeweils 2,5 x 10^{-9} g/ml
Dosis 5 - 6 : jeweils 1 x 10^{-7} g/ml
b) wie a) 1. Versuch

Vorspannung : a) In einem ersten Versuch wurden in einer randomisierten Blockanordnung die Vorspannungen 1,5 g, 2 g, 2,5 g und 3 g getestet.
In einem zweiten Versuch wurden die Vorspannungen 2 g und 2,5 g miteinander verglichen.
b) Zunächst wurden in einer randomisierten Blockanordnung die Vorspannungen 2,5 g, 3 g, 3,5 g und 4 g getestet.
Nach den erhaltenen Ergebnissen erschien es notwendig, die Vorspannungen 4,5 g und 5 g ergänzend zu prüfen. Die Aufteilung auf die Versuchstage erfolgte wie unter a) beschrieben.

Statistik

1. ANOVA (Faktoren: Tiere, Vorspannungen)
   Zielgrößen: k_M, k, $t_{k/2}$
   Faktoren : Vorspannungen
   (Wistar-Ratten: 4 Faktorstufen beim 1. bzw. 2 Faktorstufen beim 2. Versuch; Sprague-Dawley-Ratten: 6 Faktorstufen)
   Tiere
   (Wistar-Ratten: 8 - 12 Faktorstufen; Sprague-Dawley-Ratten: 12 Faktorstufen)
2. Scheffé-Test (bei Wistar-Ratten)
   Tukey-Test (bei Sprague-Dawley-Ratten)

Ergebnisse

a) Wistar-Ratten

Wie aus Tabelle 2 a ersichtlich, wurde das nach Applikation der 6. Dosis bestimmte, größte Kontraktionsvermögen der Aorten bei den Vorspannungen 2,0 und 2,5 p erreicht und war bei niedrigeren und höheren Vorspannungen kleiner.

Nach diesen Versuchsergebnissen schienen 2,0 p bzw. 2,5 p die geeignetsten Vorbelastungen zu sein. Um ihre Wirkungen noch genauer gegeneinander abzugrenzen, wurde ein weiterer Versuch durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 b aufgeführt. Bei dieser Untersuchung war k_M bei einer Vorbelastung von 2,5 p um ca. 20 % höher als bei 2,0 p.

Beide Tabellen zeigen, daß k über die Versuchsdauer praktisch konstant blieb (mit Ausnahme der Aktivierungsdosis). Der einzige be-

Tabelle 2 a: Die Wirkung unterschiedlicher Vorspannungen auf die Kontraktionskraft und -geschwindigkeit spiralig geschnittener Aortenstreifen von Wistar-Ratten nach mehrmaliger Gabe gleicher Dosen von Noradrenalin.

		1,5 p (N = 12)		2,0 p (N = 11)		2,5 p (N = 8)		3,0 p (N = 11)	
Dosis		k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]	k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]	k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]	k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]
Nr.	g/ml	MW ± SE							
6	10^{-7}	100 1)	44 7	100 2)	37 15	100 3)	41 9	100 4)	25 3
1	$2,5 \times 10^{-9}$	72 4	82 6	70 5	95 12	67 5	91 16	78 5	69 8
2	$2,5 \times 10^{-9}$	84 3	59 8	80 3	55 8	81 3	57 6	81 4	39 6
3	$2,5 \times 10^{-9}$	82 3	61 7	81 3	56 7	81 4	70 11	81 4	40 5
4	$2,5 \times 10^{-9}$	80 2	68 6	79* 3	61* 9	73* 4	71* 10	82 3	46 6
5	$2,5 \times 10^{-9}$	81 3	73 7	81 3	61* 6	73 5	81 13	82 2	45 5

1) $k_M = 0,83 \pm 0,06$ p

2) $k_M = 1,10 \pm 0,08$ p

3) $k_M = 1,13 \pm 0,11$ p

4) $k_M = 0,87 \pm 0,09$ p

* Wegen Ausfalls einer Meßeinheit bei diesen Dosen Verminderung von N um 1.

Tabelle 2 b: Wirkung von 2,0 und 2,5 p als Belastung auf die Kontraktionskraft und -geschwindigkeit spiralig geschnittener Aortenstreifen von Wistar-Ratten nach mehrmaliger Gabe gleicher Dosen von Noradrenalin.

		2,0 p (N = 12)		2,5 p (N = 11)	
Dosis		k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]	k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]
Nr.	g/ml	MW ± SE			
5 u. 6 (MW)	10^{-7}	100 [1]	34 4	100 [2]	36 4
1	$2,5 \times 10^{-9}$	64 8	54 6	61 5	63 11
2	$2,5 \times 10^{-9}$	78 3	45 5	77 3	54 9
3	$2,5 \times 10^{-9}$	78 3	40 6	79 2	50 7
4	$2,5 \times 10^{-9}$	78 3	39 5	79 3	50 5

1) k_M = 1,07 ± 0,08 p

2) k_M = 1,25 ± 0,06 p

obachtete Abfall von k bei der Vorspannung 2,5 p (siehe Tabelle 2 a) war vermutlich durch die schlechtere Qualität des verwendeten Tiermaterials verursacht.

Eine aufgrund der Zunahme von $t_{k/2}$ im ersten Versuch zunächst vermutete Ermüdung der Präparate aller Gruppen im Lauf des Versuchs ließ sich bei der nachfolgenden Untersuchung nicht reproduzieren. $t_{k/2}$ zeigte somit stärkere Schwankungen als der Parameter k.

Die Beeinflussung von k_M durch die gewählte Vorbelastung war statistisch signifikant, dagegen waren k und $t_{k/2}$ in der Regel nicht signifikant verändert.

Tabelle 3: Die Wirkung unterschiedlicher Vorspannungen auf die Kontraktionskraft und -geschwindigkeit spiralig geschnittener Aortenstreifen von Sprague-Dawley-Ratten nach mehrmaliger Gabe gleicher Dosen von Noradrenalin.

		2,5 p (N = 12)		3,0 p (N = 12)		3,5 p (N = 12)	
Dosis		k % k_M	$t_{k/2}$ s	k % k_M	$t_{k/2}$ s	k % k_M	$t_{k/2}$ s
Nr.	g/ml	MW ± SE					
6	10^{-7}	100 1)	59 3	100 2)	56 2	100 3)	66 7
1	$2,5 \times 10^{-9}$	67 2	61 4	73 2	81 8	70 2	79 11
2	$2,5 \times 10^{-9}$	78 2	62 3	81 2	73 5	79 2	60 3
3	$2,5 \times 10^{-9}$	77 1	64 3	80 2	69 4	79 2	66 5
4	$2,5 \times 10^{-9}$	74 2	63 2	74 3	67 3	76 2	65 5
5	$2,5 \times 10^{-9}$	72 2	67 3	69 3	72 4	75 2	62 5

1) k_M = 1,15 ± 0,04 p 2) k_M = 1,20 ± 0,06 p 3) k_M = 1,32 ± 0,11 p

		4,0 p (N = 12)		4,5 p (N = 12)		5,0 p (N = 12)	
Dosis		k % k_M	$t_{k/2}$ s	k % k_M	$t_{k/2}$ s	k % k_M	$t_{k/2}$ s
Nr.	g/ml	MW ± SE					
6	10^{-7}	100 4)	62 4	100 5)	65 4	100 6)	66 4
1	$2,5 \times 10^{-9}$	71 2	69 4	70 2	60 3	76 1	62 2
2	$2,5 \times 10^{-9}$	79 2	57 4	81 2	61 4	87 1	65 3
3	$2,5 \times 10^{-9}$	78 1	67 8	81 1	66 4	85 2	65 4
4	$2,5 \times 10^{-9}$	75 2	61 3	71 3	69 5	73 5	60 3
5	$2,5 \times 10^{-9}$	72 3	63 3	71 3	68 5	70 6	64 4

4) k_M = 1,36 ± 0,07 p 5) k_M = 1,46 ± 0,07 p 6) k_M = 1,54 ± 0,05 p

Angesichts der obigen Befunde wurde bei weiteren Untersuchungen an Aortenpräparaten von Wistar-Ratten eine Vorspannung von 2,5 p verwendet.

b) Sprague-Dawley-Ratten

Das nach Gabe der 6. Dosis bestimmte maximale Kontraktionsvermögen k_M bei Sprague-Dawley-Ratten stieg in Abhängigkeit von der Vorspannung bis zur höchsten geprüften Belastung (= 5 p) an (siehe Tabelle 3). Dieser Anstieg war statistisch signifikant. Hohe Vorspannungen führten allerdings, vermutlich durch eine stärkere Ermüdung der Aortenstreifen, zu einem verstärkten Abfall von k über die Versuchsdauer (ca. 15 % bzw. 20 % von der 2. bis zur 5. Dosis bei 4,5 p bzw. 5 p, während bei 4,0 p nur ein Abfall von ca. 10 % zu beobachten war).

Ausgehend von diesen Befunden erschien eine Vorspannung von 4,0 p für weitere Versuche mit Sprague-Dawley-Ratten am geeignetsten, da sie die Entwicklung eines relativ starken Kontraktionsvermögens der Präparate ermöglichte und zugleich der Abfall von k über die Dauer des Versuchs gering war.

1.1.4 Stabilisatorzusatz der Noradrenalin-Lösungen

Bei den ersten Untersuchungen mit Noradrenalin als Standardsubstanz war Ascorbinsäure als Stabilisator der Noradrenalin-Lösung verwendet worden. Beim Erstellen einer Dosis-Wirkungs-Kurve wurde jedoch bei höheren Noradrenalin- und damit auch höheren Ascorbinsäure-Konzentrationen eine kontrahierende Wirkung der Lösungsmittelkontrolle festgestellt.

Daraufhin sollte geprüft werden, ob diese Wirkung auf den Ascorbinsäurezusatz zurückzuführen war und ob auch Natriumdisulfit, das ebenfalls als Stabilisator verwendet werden kann, eine solche Wirkung besitzt.

Versuchsbedingungen

Testpräparat : Aortenstreifen von Wistar-Ratten

Nährlösung : Krebs-Ringer

Vorspannung : 2,5 p

Testsubstanzen : a) 1. Ascorbinsäure
2. Noradrenalin + Ascorbinsäure
b) 1. Natriumdisulfit
2. Noradrenalin + Natriumdisulfit

Dosierung : a) 1. Versuchstag

Dosis 1 : $2{,}5 \times 10^{-9}$ g/ml Noradrenalin

Dosis 2 : 1×10^{-9} g/ml Ascorbinsäure

Dosis 3 : 1×10^{-8} g/ml Ascorbinsäure

Dosis 4 : 1×10^{-7} g/ml Ascorbinsäure

Dosis 5-6 jeweils : 1×10^{-7} g/ml Noradrenalin

2. Versuchstag

Dosis 1 : $2{,}5 \times 10^{-9}$ g/ml Noradrenalin

Dosis 2 : 1×10^{-7} g/ml Ascorbinsäure

Dosis 3 : 1×10^{-6} g/ml Ascorbinsäure

Dosis 4 : 1×10^{-5} g/ml Ascorbinsäure

Dosis 5-6 jeweils : 1×10^{-7} g/ml Noradrenalin

b) Dosis 1 : 2,5 x 10^{-9} g/ml Noradrenalin
Dosis 2 : 1 x 10^{-6} g/ml Natriumdisulfit
Dosis 3 : 1 x 10^{-5} g/ml Natriumdisulfit
Dosis 4 : 1 x 10^{-4} g/ml Natriumdisulfit
Dosis 5-6 jeweils : 1 x 10^{-7} g/ml Noradrenalin

Befunde

Es wurde eine dosisabhängige, kontrahierende Wirkung von Ascorbinsäure in Dosen von 10^{-7} g/ml ($k = 18 \pm 10$ % von k_M, N = 5) und 10^{-6} g/ml Badflüssigkeit ($k = 69 \pm 6$ % von k_M, N = 5) beobachtet. Diese Dosen hatten bei einer Noradrenalin-Konzentration von 10^{-7} g/ml bzw. 10^{-6} g/ml zur Stabilisation gedient.

Wie ein Vergleich von Dosis-Wirkungs-Kurven für Noradrenalin mit und ohne Zusatz von Ascorbinsäure zeigte ($k_M = 1,12 \pm 0,03$ p bzw. $1,27 \pm 0,06$ p, N = 6 bzw. 9), ergab sich jedoch keine Addition der Wirkungen von Ascorbinsäure und Noradrenalin. Dies ist darauf zurückzuführen, daß beide Substanzen in gleichzeitig steigenden Dosierungen verabreicht wurden, wobei die wirksame Mindestdosis von Ascorbinsäure erst erreicht wurde, als bereits die maximal wirksame Noradrenalin-Konzentration und damit die maximale Kontraktionskraft der Aortenstreifen erreicht war. Daher konnten die bei vorhergehenden Versuchen unter Verwendung von Ascorbinsäure erzielten Ergebnisse fast ausschließlich als Wirkung von Noradrenalin gewertet werden. Es konnte jedoch nicht ausgeschlossen werden, daß bei späteren Versuchen (durch erniedrigte Noradrenalin- bzw. erhöhte Ascorbinsäure-Empfindlichkeit) eine Verfälschung der Ergebnisse durch Erhöhung der Kontraktionskraft zustande kommen könnte.

Natriumdisulfit zeigte im orientierenden Vorversuch (N = 2) in Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-6} g/ml Badflüssigkeit keine Eigenwirkung. Daher wurde bei allen folgenden Versuchen den verwendeten Noradrenalin- und Adrenalin-Lösungen Natriumdisulfit als Stabilisator in einer Konzentration von 10^{-3} g/ml zugesetzt, so daß sich jeweils eine Konzentration von 10^{-5} g/ml Badflüssigkeit ergab. Auch in diesen Versuchen wurde nie eine kontrahierende Wirkung von Natriumdisulfit gefunden.

1.1.5 Vergleich von Kontraktionskraft und -geschwindigkeit

- verschiedener Rattenstämme
- unterschiedlicher Aortenabschnitte (Tabelle 4)

Ausgehend von der Überlegung, ob aus tierschützerischen und aus arbeitsökonomischen Gründen die Verwendung von 2 statt 1 Testpräparats pro eingesetztem Tier und somit eine Einsparung von 50 % der Versuchstiere möglich ist, sollte festgestellt werden, inwieweit Unterschiede in den Reaktionen proximaler und distaler Aortenabschnitte derselben Tiere bestehen.

Gleichzeitig sollte überprüft werden, ob Unterschiede in der Reagibilität der Aorten von Wistar- bzw. Sprague-Dawley-Ratten bestehen.

Da eine unterschiedliche Empfindlichkeit der Präparate am besten bei der Verwendung niedriger Dosen zu erkennen ist, wurde der untere Teil der Dosis-Wirkungs-Kurve von Noradrenalin (vergleiche Abbildung 2, Seite 43) vergleichend getestet.

Versuchsbedingungen

Testpräparat : Proximale und distale Aortenabschnitte von
a) Wistar-Ratten (SPF-Tiere)
b) Sprague-Dawley-Ratten (SPF-Tiere)

Nährlösung : Krebs-Ringer

Vorspannung : 2,5 p

Testsubstanz : Noradrenalin + Natriumdisulfit

Dosierung : Dosis 1 : $2,5 \times 10^{-9}$ g/ml Noradrenalin
Dosis 2 : 1×10^{-7} g/ml Noradrenalin
Dosis 3 : 1×10^{-10} g/ml Noradrenalin
Dosis 4 : 1×10^{-9} g/ml Noradrenalin
Dosis 5 : 1×10^{-8} g/ml Noradrenalin
Dosis 6 : 1×10^{-7} g/ml Noradrenalin

Statistik

I. 1. ANOVA

Zielgrößen: k_M, k, $t_{k/2}$

Faktoren : Rattenstämme (2 Faktorstufen), proximale und distale Abschnitte, Tiere (9 Faktorstufen)

2. Scheffé- bzw. Tukey-Test

II. Soweit wegen sehr kleiner Meßwerte keine ANOVA durchgeführt werden konnte, wurde nach Fisher's exakter Methode die Zahl der kontrahierten Abschnitte gegen die der nicht kontrahierten verglichen.

Befunde

Die maximale Kontraktionskraft k_M der Aortenabschnitte von Sprague-Dawley-Ratten war deutlich höher als die von Wistar-Ratten ($p \leq 0,01$), während $t_{k/2}$ bei Sprague-Dawley-Ratten kürzer war ($p \leq 0,01$).

Nach Gabe der Dosis 3 (10^{-10} g/ml Noradrenalin) reagierten bereits einige der Testpräparate mit einer geringen Kontraktion. Die prozentualen Anteile von reagierenden Präparaten in den verschiedenen Gruppen waren wie folgt:

	proximale Abschnitte	distale Abschnitte
Wistar-Ratten	11 %	20 %
Sprague-Dawley-Ratten	40 %	60 %

Aortenabschnitte von Sprague-Dawley-Ratten zeigten also eine Tendenz zu höherer Empfindlichkeit gegenüber Noradrenalin als solche von Wistar-Ratten. Dies konnte allerdings statistisch nicht gesichert werden.

Demgegenüber waren nach Gabe der Dosen 10^{-9} g/ml bzw. 10^{-8} g/ml Noradrenalin keine Unterschiede zwischen den Stämmen festzustellen.

Während zwischen proximalen und distalen Abschnitten von Wistar-Ratten keine Unterschiede gefunden wurden ($p > 0,05$ im Scheffé-Test), war die maximale Kontraktionskraft der proximalen Abschnitte von Sprague-Dawley-Ratten um ca. 25 % höher als die der distalen ($p \leq 0,01$ im Tukey-Test). Die Unterschiede in der Zahl der reagierenden proximalen und distalen Abschnitte nach Gabe von 10^{-10}g/ml Noradrenalin (s.o.) waren zu gering, um Schlüsse auf eine Tendenz zuzulassen.

Nach Gabe von 10^{-9} g/ml bzw. 10^{-8} g/ml Noradrenalin reagierten bei

Tabelle 4: Kontraktionskraft und -geschwindigkeit proximaler und distaler, spiralig geschnittener Aortenabschnitte von Wistar- und Sprague-Dawley-Ratten nach Gabe von Noradrenalin.

		Wistar				Sprague - Dawley			
		proximale Abschnitte (N = 9)		distale Abschnitte (N = 10)		proximale Abschnitte (N = 10)		distale Abschnitte (N = 10)	
Dosis		k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]	k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]	k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]	k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]
Nr.	g/ml	MW ± SE							
2	10^{-7}	100 1)	37 6	100 2)	43 3	100 3)	31 3	100 4)	28 3
3	10^{-10}	2 2	7 7	1 1	0 0	1 0	5 5	2 1	3 3
4	10^{-9}	14 6	22 8	9 2	34 9	18 7	41 9	12 3	37 9
5	10^{-8}	61 7	39 4	56 6	41 4	69 4	34 3	59 6	41 4
6	10^{-7}	117 8	39 3	104 4	45 3	99 2	26 2	111 9	32 3

1) k_M = 0,79 ± 0,11 p 2) k_M = 0,88 ± 0,08 p 3) k_M = 1,46 ± 0,06 p 4) k_M = 1,17 ± 0,15 p

beiden Stämmen die proximalen Abschnitte empfindlicher als die distalen, was sich in einer höheren Kontraktionskraft k ausdrückte. Dieser Unterschied war jedoch nur bei der Dosis 10^{-8} g/ml Noradrenalin statistisch signifikant. Bezüglich des Parameters $t_{k/2}$ konnten keine Unterschiede zwischen proximalen und distalen Abschnitten gefunden werden.

Die Tiere innerhalb der einzelnen Gruppen reagierten bezüglich der maximalen Kontraktionskraft und der Kontraktionsgeschwindigkeit individuell statistisch signifikant unterschiedlich ($p \leq 0,01$ bzw. $p \leq 0,05$). Dies galt ebenso für die anderen, verabreichten Dosen.

Da sich nach statistischer Prüfung ergab, daß die Streuungen der Meßwerte bei Verwendung verschiedener Tiere größer waren als die, die durch die unterschiedliche Lage der Aortenabschnitte im Körper eines Tieres verursacht wurden, war es möglich, bei weiteren Untersuchungen von jedem Tier je einen proximalen und distalen Aortenabschnitt gleichrangig zu verwenden. Dadurch konnte die Zahl der eingesetzten Versuchstiere erniedrigt werden.

Zur Prüfung der Ermüdung der Testpräparate durch die Versuchszeit von ca. 4-5 Stunden wurde zu Ende des Versuchs eine zweite maximale Noradrenalin-Kontraktion herbeigeführt. Dabei zeigte keine Gruppe eine Abnahme von k_M oder praktisch bedeutsame Verlängerung von $t_{k/2}$. Eine Ermüdung oder Schädigung der Präparate durch die Länge der Versuchszeit war daher auszuschließen.

1.1.6 Erstellung einer Dosis-Wirkungs-Beziehung für Noradrenalin (Tabelle 5)

Es sollte die dosisabhängige Wirkung von Noradrenalin auf Aortenabschnitte von Wistar- und Sprague-Dawley-Ratten unter den im vorigen erarbeiteten, für die jeweiligen Stämme optimalen Bedingungen untersucht werden.

Versuchsbedingungen

Testpräparat : a) Proximale und distale Aortenabschnitte von Wistar-Ratten (SPF-Tiere)
b) Proximale und distale Aortenabschnitte von Sprague-Dawley-Ratten (SPF-Tiere)

Nährlösung : Krebs-Ringer

Vorspannung : a) 2,5 p
b) 4,0 p

Testsubstanz : Noradrenalin + Natriumdisulfit

Dosierung : 1. Versuchstag

Dosis 1 : $2{,}5 \times 10^{-9}$ g/ml Noradrenalin

Dosis 2 : 1×10^{-7} g/ml Noradrenalin

Dosis 3-5 : 1×10^{-12}, 1×10^{-11}, 1×10^{-10} g/ml Noradrenalin wurden in randomisierter Reihenfolge verabreicht.

Dosis 6 : 1×10^{-7} g/ml Noradrenalin

2. Versuchstag

Dosis 1 : wie 1. Versuchstag

Dosis 2 : wie 1. Versuchstag

Dosis 3-5 : 1 x 10^{-10}, 1 x 10^{-9}, 1 x 10^{-8} g/ml Noradrenalin wurden in randomisierter Reihenfolge verabreicht.

Dosis 6 : wie 1. Versuchstag

3. Versuchstag

Dosis 1 : wie 1. Versuchstag

Dosis 2 : wie 1. Versuchstag

Dosis 3-4 : 1 x 10^{-8}, 1 x 10^{-7} g/ml Noradrenalin wurden in randomisierter Reihenfolge verabreicht.

Dosis 5 : 1 x 10^{-6} g/ml Noradrenalin

Dosis 6 : wie 1. Versuchstag

Befunde

Die Lösungsmittelkontrolle (N = 8) verursachte bei beiden Tierstämmen keine Reaktion der Präparate.

Jeweils zu Beginn eines Versuchs wurden 10^{-7} g/ml Noradrenalin zur Bestimmung von k_M verabreicht. Dies wurde am Versuchsende wiederholt, um so Hinweise auf eine eventuelle Ermüdung oder Schädigung der Präparate während des Versuchs zu erhalten.

Die Präparate der Lösungsmittelkontrollen wurden in gleicher Weise behandelt. Sie unterschieden sich bezüglich k_M und $t_{k/2}$ von k_M nicht von den Präparaten, die mit der Prüfsubstanz behandelt worden waren. Auch am Versuchsende zeigte sich in Hinblick auf die maximale Kontraktionskraft kein Unterschied, während $t_{k/2}$ bei den Lösungsmittelkontrollen um ca. 50 % (Wistar-Ratten) bzw. 35 % (Sprague-Dawley-Ratten) verlängert war.

Aus der Tabelle 5 ist zu ersehen, daß, wie bei den vorhergehenden Versuchen, das maximale Kontraktionsvermögen der Aortenabschnitte von Sprague-Dawley-Ratten im allgemeinen größer war als bei Wistar-Ratten.

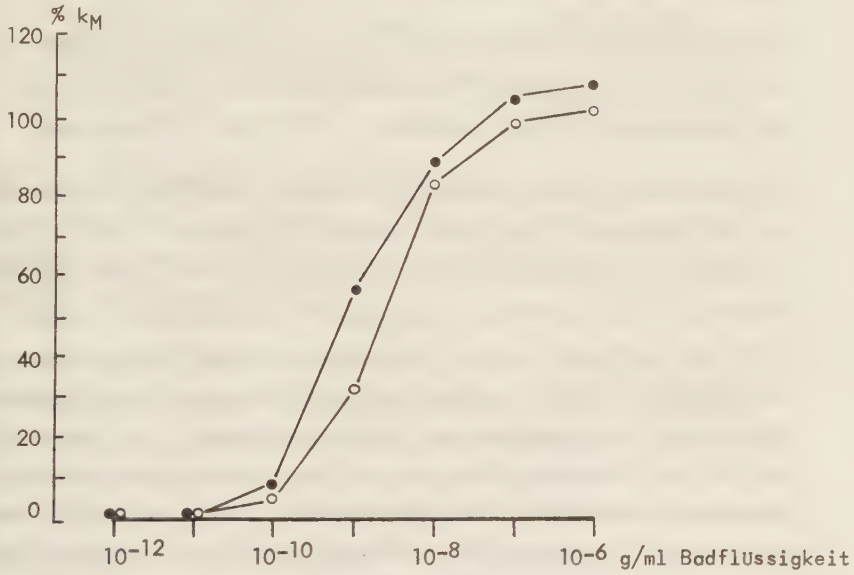
Die Dosis-Wirkungs-Kurven für Noradrenalin (vergleiche Abbildung 2) zeigen jedoch für beide Rattenstämme eine gute Übereinstimmung sowohl hinsichtlich der wirksamen Mindestdosis wie auch der Abflachung der Kurve im Bereich hoher Dosen. Lediglich bei der Dosis 10^{-9} g/ml reagierten die Präparate von Sprague-Dawley-Ratten empfindlicher.

Tabelle 5: Wirkung von Noradrenalin auf die Kontraktionskraft und -geschwindigkeit spiralig geschnittener Aortenabschnitte von Wistar-Ratten und Sprague-Dawley-Ratten.

		Wistar		Sprague-Dawley	
Dosisreihe	Dosis g/ml	k [% k_M] MW ± SE	$t_{k/2}$ [s] MW ± SE	k [% k_M] MW ± SE	$t_{k/2}$ [s] MW ± SE
10^{-12} - 10^{-10} g/ml	10^{-7}	100 1)	93 8	100 4)	82 3
	10^{-12}	0 0	0 0	0 0	0 0
	10^{-11}	0 0	0 0	0 0	0 0
	10^{-10}	6 2	> 0 > 0	2 0	> 0 > 0
	10^{-7}	92 2	117 8	100 1	117 3
10^{-10} - 10^{-8} g/ml	10^{-7}	100 2)	71 1	100 5)	57 3
	10^{-10}	3 1	> 0 > 0	12 3	> 0 > 0
	10^{-9}	31 5	65 8	57 4	78 5
	10^{-8}	80 5	61 3	86 3	61 4
	10^{-7}	104 4	59 3	97 3	48 3
10^{-8} - 10^{-6} g/ml	10^{-7}	100 3)	71 5	100 6)	75 5
	10^{-8}	86 1	80 3	90 1	83 7
	10^{-7}	98 1	72 3	104 1	73 7
	10^{-6}	101 1	95 7	108 2	76 5
	10^{-7}	89 3	75 3	101 1	94 4

1) k_M = 0,73 ± 0,08 p, N = 6
2) k_M = 1,09 ± 0,09 p, N = 6
3) k_M = 0,73 ± 0,08 p, N = 6
4) k_M = 1,29 ± 0,06 p, N = 7
5) k_M = 1,23 ± 0,12 p, N = 7
6) k_M = 0,95 ± 0,08 p, N = 8

Abbildung 2: Dosisabhängige Wirkung von Noradrenalin auf die Kontraktionskraft spiralig geschnittener Aortenabschnitte von Wistar-Ratten (o) und Sprague-Dawley-Ratten (•).



$t_{k/2}$ zeigte keine gerichtete Dosisabhängigkeit und war bei beiden Stämmen ungefähr gleich.

Das Kontraktionsvermögen der Präparate nach Gabe von 10^{-7} g/ml Noradrenalin änderte sich von der 1. Bestimmung bei Versuchsbeginn bis zur 2. bei Versuchsende nur unwesentlich (vergleiche Tabelle 5). Lediglich bei den Wistar-Ratten war in der höchsten Dosisreihe ein Abfall von k_M bis zum Ende des Versuchs um 11 % zu beobachten. Dies spricht für eine geringgradige Schädigung der Präparate durch die Dosis 10^{-6} g/ml.

Ein Vergleich von $t_{k/2}$ nach Gabe von 10^{-7} g/ml Noradrenalin zu Versuchsbeginn und -ende zeigt bei den Dosisreihen 10^{-10} bis 10^{-8} g/ml und 10^{-8} bis 10^{-6} g/ml Schwankungen dieses Parameters bis zu 20 %, die vermutlich zufallsbedingt sind.

Lediglich bei der Dosisreihe 10^{-12} bis 10^{-10} g/ml und den Kontrollen traten bei beiden Tierstämmen Verlängerungen von $t_{k/2}$ am Versuchsende auf, die zwischen ca. 25 % und 50 % betrugen.

Im Unterschied zu den höheren Dosisreihen fanden bei den Kontrollen und der genannten, niedrigsten Dosisreihe zwischen 1. und 2. Bestimmung von k_M praktisch keine Kontraktionen statt. Die Aortenstreifen waren somit über einen längeren Zeitraum (ca. 90 min) nicht mehr aktiviert worden. Da in zuvor durchgeführten Untersuchungen ohne vorherige Aktivierung der Präparate eine langsamere Kontraktion zu beobachten war (vergleiche Absatz 1.1.1, Seite 21 ff), war die hier beobachtete Abnahme der Kontraktionsgeschwindigkeit vermutlich ebenfalls auf die fehlende Aktivierung vor der 2. Bestimmung von k_M zurückzuführen. Eine Ermüdung oder Schädigung der Präparate über die Versuchsdauer ist unwahrscheinlich, da diese vermutlich in gleicher Weise bei den Aortenstreifen aufgetreten wäre, an denen die höheren Noradrenalin-Dosisreihen getestet worden waren.

1.2. Standardisierung der durch K^+-Depolarisation bewirkten Kontraktion

- verschiedene K^+-Konzentrationen (Tabellen 6, 7)
- unterschiedliche Vorspannungen (Tabellen 8, 9)
- proximale und distale Aortenabschnitte (Tabellen 10, 11)

Für die im folgenden aufgeführte Untersuchung galt ebenfalls die unter Abschnitt 1.1 aufgeführte Zielsetzung (Entwicklung einer möglichst großen Kontraktionskraft, geringe Ermüdung der Präparate bei Mehrfachdosierung).

Neben einer geeigneten K^+-Konzentration in der Nährlösung mußte wiederum eine optimale Vorspannung gefunden werden. Außerdem war zu prüfen, ob pro Tier 2 Aortenabschnitte verwendet werden konnten.

Das Maximum der K^+-Dosis-Wirkungs-Kurve für Kaninchen-Aortenstreifen liegt bei 80 mM (ALTURA, ALTURA 1970[2]). Ungefähre Angaben gleicher Größe finden sich für Ratten-Aortenstreifen (ALTURA, ALTURA 1975). Zuzüglich der 4,7 mM K^+ in der sonst verwendeten Krebs-Ringer-Lösung sollte daher die Konzentration 84,7 mM geprüft werden. Hiermit sollte eine ca. halb so hohe K^+-Konzentration verglichen werden. Dafür wurde das 10-fache (47 mM) der üblichen K^+-Konzentration ausgewählt. Außerdem sollte die von KUKOVETZ et al. (1976) angegebene K^+-Konzentration von 27 mM vergleichend getestet werden.

Um den osmotischen Druck der Lösungen konstant zu halten, wurde der NaCl-Gehalt entsprechend der jeweiligen Erhöhung des KCl-Gehalts äquimolar reduziert.

Während bei der Prüfung auf kontrahierende Wirkung die maximale Spannung (Vorspannung + Kontraktionskraft nach Gabe der Prüfsubstanz) nur kurze Zeit aufrechterhalten werden muß, erstreckt sich diese Zeit bei der Prüfung auf relaxierende Wirkung praktisch über die gesamte Versuchsdauer. Um einer schnellen Ermüdung der Präparate bei längerer Einwirkung der K^+-reichen Nährlösung vorzubeugen, erschien es daher notwendig, außer der in den vorhergehenden Untersuchungen mit Wistar-Ratten optimalen Vorspannung von 2,5 p weitere, niedrigere Vorspannungen zu testen.

Zur Prüfung der Reagibilität der Präparate auf Vasodilatatoren wurde Natrium-Nitroprussid verwendet.

Versuchsbedingungen

Testpräparat : Proximale und distale Aortenabschnitte von Wistar-Ratten

Testsubstanz : Natrium-Nitroprussid

Dosierung : Dosis 1: 10^{-10} g/ml
Dosis 2: 10^{-9} g/ml
Dosis 3: 10^{-8} g/ml
Dosis 4: 10^{-7} g/ml

Nährlösungen : 1. während Präparation und Äquilibrierung: Krebs-Ringer-Lösung mit 4,7 mM KCl (siehe Seite 21)

2. für Kontraktion:
a) modifizierte Krebs-Ringer-Lösung mit 27 mM KCl
b) modifizierte Krebs-Ringer-Lösung mit 47 mM KCl
c) modifizierte Krebs-Ringer-Lösung mit 84,7 mM KCl

Pro Versuchstag konnte eine der drei Lösungen geprüft werden. Der Test erfolgte in einer über die Tage randomisierten Blockanordnung.

Vorspannungen : In einer randomisierten Blockanordnung wurden für jede der verwendeten Lösungen die Vorspannungen 0,5 p, 1,0 p, 1,5 p, 2,0 p und 2,5 p genommen.

Statistik

1. ANOVA

   Zielgrößen: k_M, $t_{k/2}$; k, $t_{R/2}$

   Faktoren : K^+-Konzentrationen (3 Faktorstufen), Vorspannungen (5 Faktorstufen), proximale und distale Abschnitte, Tiere (30 bzw. 18 bzw. 45 Faktorstufen)

2. Tukey-Test

Befunde

Da aus den Tabellen 6 - 11 sämtliche, statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen und die Irrtumswahrscheinlichkeiten ermittelt werden können, wird im folgenden nur auf die wichtigsten Unterschiede eingegangen.

Bei den unterschiedlichen K^+-Konzentrationen unterschieden sich 47 mM und 84,7 mM in Hinblick auf die maximale Kontraktionskraft zu Versuchsbeginn praktisch nicht. Bei Verwendung von 27 mM K^+ war k_M jedoch deutlich verringert. $t_{k/2}$ zeigte eine statistisch nicht signifikante Tendenz zur Verringerung mit steigender K^+-Konzentration.

Die mit 27 mM K^+ kontrahierten Präparate zeigten eine stärkere Abnahme der Kontraktionskraft nach Gabe von Natrium-Nitroprussid als die übrigen Aortenabschnitte. Entsprechend dieser stärkeren Abnahme war nach Applikation der Dosen 10^{-10} g/ml und 10^{-9} g/ml auch die Relaxationszeit $t_{R/2}$ verlängert. Nach Gabe höherer Dosen war

$t_{R/2}$ gegenüber den anderen Gruppen jedoch deutlich verringert. Hier zeigte sich die höhere Reagibilität der Präparate gegenüber Natrium-Nitroprussid demnach auch in einer höheren Relaxationsgeschwindigkeit.

Bei der letztmaligen Bestimmung von k_M nahm dieser Parameter allerdings bei den mit 27 mM K^+ kontrahierten Präparaten im Vergleich 2,5 bis 3 mal stärker ab als bei der Verwendung höherer K^+-Konzentrationen. Zugleich war $t_{k/2}$ ca. doppelt so lang wie bei 47 mM und 84,7 mM.

Alle erwähnten Unterschiede zwischen den verwendeten K^+-Konzentrationen konnten mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0{,}01$ statistisch gesichert werden.

Wegen der starken Verringerung des Kontraktionsvermögens über die Versuchsdauer bei Verwendung von 27 mM K^+ schied diese Konzentration für weitere Versuche aus. Da zwischen den Konzentrationen 47 mM und 84,7 mM keine praktisch bedeutsamen Unterschiede gefunden wurden, es aber sinnvoll erschien, keine stärkeren Änderungen des Ionen-Milieus als notwendig vorzunehmen, wurde für künftige Untersuchungen eine K^+-Konzentration von 47 mM verwendet.

Wie bereits in den zuvor aufgeführten Untersuchungen (vergleiche Abschnitt 1.1.3) stieg auch hier k_M mit der Vorspannung statistisch signifikant an. Das dazugehörige $t_{k/2}$ wurde durch die Vorspannung nicht beeinflußt. Diesbezügliche Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen lagen innerhalb der biologischen Schwankungsbreite.

Die Reagibilität der Präparate nach Gabe von Natrium-Nitroprussid wurde durch die geprüften Vorspannungen nicht beeinflußt.

Bei der letztmaligen Bestimmung von k_M am Versuchsende war zwischen den Vorspannungen 0,5 bis 2,0 p kein Unterschied zu beobachten. Bei der Verwendung von 2,5 p zeigte sich ein - statistisch allerdings nicht signifikanter - Trend zu einer stärkeren Abnahme dieses Parameters im Vergleich zum Vorwert. Dies deutete, zusammen mit einem im Vergleich zu den übrigen Gruppen relativ großen Wert von $t_{k/2}$ ($p > 0,05$), auf eine stärkere Ermüdung der Präparate bei dieser Vorspannung hin.

Um - bei Inkaufnahme einer nur mäßigen Verminderung von k_M - einen ausreichend großen Sicherheitsabstand zu der Vorspannung 2,5 p zu wahren, wurden die Präparate bei späteren Untersuchungen mit 1,5 p belastet.

Bei der Verwendung von proximalen Aortenabschnitten war k_M um ca. 8 % (zu Versuchsbeginn) bzw. 14,5 % (am Versuchsende) höher als bei den distalen Aortenabschnitten. Dieser Unterschied war statistisch signifikant. Dagegen wiesen beide Gruppen hinsichtlich der prozentualen Änderungen von k_M nach Gabe von Natrium-Nitroprussid nur geringe, praktisch zu vernachlässigende Unterschiede auf ($p > 0,05$). Zudem zeigte die statistische Prüfung (wie schon in vorangegangenen Untersuchungen, vergleiche Abschnitt 1.1.5), daß die Streuungen der prozentualen Werte bei Verwendung verschiedener Tiere größer waren als bei Verwendung unterschiedlicher Aortenabschnitte eines Tieres. Auch bei Untersuchungen mit K^+-depolarisierten Präparaten konnten demnach pro Tier zwei Abschnitte verwendet werden.

Erläuterungen zu den Tabellen 6 - 9:

Um die Tabellen übersichtlicher zu gestalten, wurde darauf verzichtet, die Standardabweichungen der Mittelwerte anzugeben. Stattdessen wurden, soweit signifikante Unterschiede vorhanden waren, die Grenzdifferenzen für statistische Signifikanz im Tukey-Test aufgenommen (* = $p \leq 0{,}05$, ** = $p \leq 0{,}01$).

Tabelle 6: Abhängigkeit der über verschiedene Vorspannungen gemittelten Parameter k_M und $t_{k/2}$ nach Depolarisation proximaler und distaler Aortenabschnitte mit K^+-reicher Nährlösung von der verwendeten K^+-Konzentration (zu Versuchsbeginn und nach dem Erstellen einer Natrium-Nitroprussid-Dosis-Wirkungs-Kurve). N = 30

Parameter		K^+-Konzentration			Sign.	Grenzdifferenz
		27 mM	47 mM	84,7 mM		
k_M	Vorwert [p]	0,73	1,02	1,00	++	* 0,09 ** 0,13
	Nachwert [p]	0,47	0,91	0,84	++	* 0,13 ** 0,16
	%-Differenz	35,82	10,75	14,63	++	* 11,35 ** 14,47
$t_{k/2}$	Vorwert [s]	140	135	122	-	
	Nachwert [s]	766	392	317	++	* 152 ** 194

Tabelle 7: Abhängigkeit der über verschiedene Vorspannungen gemittelten Parameter k und $t_{R/2}$ bei der Relaxation K^+-depolarisierter, proximaler und distaler Aortenabschnitte durch konsekutive Dosen von Natrium-Nitroprussid (NNP) von der verwendeten K^+-Konzentration. N = 30

Parameter	NNP g/ml	K^+-Konzentration			Sign.	Grenzdifferenz
		27 mM	47 mM	84,7 mM		
k [% k_M]	1×10^{-6}	83	94	93	++	* 2 ** 3
	1×10^{-5}	43	74	75	++	* 4 ** 6
	1×10^{-4}	5	33	34	++	* 5 ** 6
	1×10^{-3}	1	13	11	++	* 3 ** 4
$t_{R/2}$ [s]	1×10^{-6}	205	118	143	++	* 55 ** 70
	1×10^{-5}	150	129	107	++	* 27 ** 35
	1×10^{-4}	80	119	97	++	* 17 ** 21
	1×10^{-3}	54	85	76	++	* 12 ** 15

Tabelle 8: Abhängigkeit der über verschiedene K^+-Konzentrationen gemittelten Parameter k_M und $t_{k/2}$ nach Depolarisation proximaler und distaler Aortenabschnitte mit K^+-reicher Nährlösung von der verwendeten Vorspannung (zu Versuchsbeginn und nach dem Erstellen einer Natrium-Nitroprussid-Dosis-Wirkungs-Kurve). N = 18

Parameter		Vorspannung					Sign.	Grenz-differenz
		0,5 p	1,0 p	1,5 p	2,0 p	2,5 p		
k_M	Vorwert [p]	0,79	0,83	0,92	0,95	1,08	++	* 0,15 ** 0,19
	Nachwert [p]	0,68	0,68	0,73	0,81	0,80	-	
	%-Differenz	15,79	20,23	22,70	15,75	27,44	-	
$t_{k/2}$	Vorwert [s]	143	129	133	132	126	-	
	Nachwert [s]	481	502	524	400	552	-	

Tabelle 9: Abhängigkeit der über verschiedene K^+-Konzentrationen gemittelten Parameter k und $t_{R/2}$ bei der Relaxation K^+-depolarisierter, proximaler und distaler Aortenabschnitte durch konsekutive Dosen von Natrium-Nitroprussid (NNP) von der verwendeten Vorspannung. N = 18

Para-meter	NNP g/ml	Vorspannung 0,5 p	1,0 p	1,5 p	2,0 p	2,5 p	Sign.
k [% k_M]	1×10^{-6}	91	89	91	90	89	-
	1×10^{-5}	64	62	66	65	62	-
	1×10^{-4}	25	23	24	26	23	-
	1×10^{-3}	9	7	9	10	8	-
$t_{k/2}$ [s]	1×10^{-6}	176	137	171	160	131	-
	1×10^{-5}	145	143	128	109	118	-
	1×10^{-4}	113	99	100	93	90	-
	1×10^{-3}	79	68	79	69	63	-

Tabelle 10: Abhängigkeit der über verschiedene Vorspannungen und K^+-Konzentrationen gemittelten Parameter k_M und $t_{k/2}$ nach Depolarisation von Aortenabschnitten mit K^+-reicher Nährlösung von der Lage der Abschnitte in situ (zu Versuchsbeginn und nach dem Erstellen einer Natrium-Nitroprussid-Dosis-Wirkungs-Kurve). N = 45

Parameter		proximale Abschnitte	distale Abschnitte	Sign.
k_M	Vorwert [p]	0,95 ± 0,04	0,88 ± 0,03	+
	Nachwert [p]	0,79 ± 0,04	0,69 ± 0,04	+
	%-Differenz	18,87 ± 2,41	23,82 ± 2,56	-
$t_{k/2}$	Vorwert [s]	129 ± 4	136 ± 4	-
	Nachwert [s]	491 ± 42	492 ± 49	-

Tabelle 11: Abhängigkeit der über verschiedene Vorspannungen und K+-Konzentrationen gemittelten Parameter k und $t_{R/2}$ bei der Relaxation K^+-depolarisierter Aortenabschnitte durch konsekutive Dosen von Natrium-Nitroprussid (NNP) von der Lage der Abschnitte in situ. N = 45

Parameter	NNP g/ml	proximale Abschnitte	distale Abschnitte	Sign.
k [% k_M]	1×10^{-6}	91 ± 1	89 ± 1	+
	1×10^{-5}	65 ± 2	63 ± 3	-
	1×10^{-4}	24 ± 2	25 ± 2	-
	1×10^{-3}	8 ± 1	9 ± 1	-
$t_{R/2}$ [s]	1×10^{-6}	156 ± 15	154 ± 14	-
	1×10^{-5}	133 ± 6	124 ± 7	-
	1×10^{-4}	101 ± 4	97 ± 4	-
	1×10^{-3}	72 ± 3	71 ± 3	-

1.3 Folgerungen für die im weiteren angewandte Methodik

1.3.1 Katecholamin-induzierte Kontraktion

Ausgehend von den oben angeführten Ergebnissen wurde bei allen weiteren Untersuchungen wie folgt vorgegangen:

Es wurde pro Tier ein proximaler und ein distaler Aortenabschnitt präpariert. Die Vorspannung betrug bei Verwendung von Wistar-Ratten 2,5 p, bei Verwendung von Sprague-Dawley-Ratten 4,0 p. Als Nährlösung wurde Krebs-Ringer-Lösung eingesetzt.

Nach Beendigung der Äquilibrierungszeit wurden die Aortenstreifen zunächst durch $2,5 \times 10^{-9}$ g Noradrenalin/ml Badflüssigkeit aktiviert. Nach einer Einwirkzeit von 15 min wurde die Substanz mit vorgewärmter Nährlösung aus den Aorten ausgewaschen. An den Waschvorgang schloß sich eine 15-minütige Ruhezeit an; danach wurden 10^{-7} g Noradrenalin/ml Badflüssigkeit zugegeben. Diese Dosis diente zur Bestimmung von k_M. Dann konnte, je nach Fragestellung, entweder sofort oder nach einem Waschvorgang und anschließender 20-minütiger Ruhezeit die Substanzprüfung beginnen.

Alle verabreichten Katecholamin-Lösungen enthielten zur Stabilisation 0,1 % Natriumdisulfit. Die Badkonzentration von Natriumdisulfit betrug somit 10^{-5} g/ml.

1.3.2 Durch K^+-Depolarisation bewirkte Kontraktion

Es wurde ebenfalls pro Tier (nur Wistar-Ratten) ein proximaler und ein distaler Aortenabschnitt verwendet. Die Vorspannung betrug 1,5 p. Präparation und Äquilibrierung erfolgten in Krebs-Ringer-Lösung. Diese wurde nach Beendigung der Äquilibrierungszeit durch

mehrmaliges Auswaschen gegen modifizierte Krebs-Ringer-Lösung mit 47 mM KCl ausgetauscht. Nachdem die Aortenabschnitte ein Kontraktionsplateau erreicht hatten, konnte die Substanzprüfung beginnen. Weitere Waschvorgänge erfolgten mit der gleichen, modifizierten Krebs-Ringer-Lösung.

2. Untersuchungen zur Gefäßwirkung von Indometacin und Paracetamol

2.1. Wirkung von Indometacin-Na und Paracetamol auf die Katecholamin-induzierte Kontraktion

2.1.1 Indometacin-Na

Noradrenalin-induzierte Kontraktion (Tabelle 12*)

Es sollte die dosisabhängige Wirkung von Indometacin-Na auf die Kontraktion von Aorten-Abschnitten nach Gabe nahezu maximal wirksamer Noradrenalin-Dosen (10^{-7} g/ml) geprüft werden. Dabei sollte auch der Einfluß unterschiedlicher Einwirkzeiten untersucht werden. Indometacin-Na wurde daher zu drei unterschiedlichen Zeiten vor und nach Applikation von Noradrenalin verabreicht.

Versuchsbedingungen

Versuchstiere : Sprague-Dawley-Ratten

Dosierung :
1. Dosisreihe 1×10^{-7} $2{,}5 \times 10^{-7}$ 5×10^{-7} g/ml
2. Dosisreihe 1×10^{-6} $2{,}5 \times 10^{-6}$ 5×10^{-6} g/ml
3. Dosisreihe 1×10^{-5} $2{,}5 \times 10^{-5}$ 5×10^{-5} g/ml
4. Dosisreihe 1×10^{-4} $2{,}5 \times 10^{-4}$ 5×10^{-4} g/ml

Applikation : Sie wird am Beispiel der ersten Dosisreihe erläutert:

Methoden I, II (Indometacin-Na vor Noradrenalin):

Dosis 1: $2{,}5 \times 10^{-9}$ g/ml Noradrenalin (Aktivierung)

Dosis 2: 1×10^{-7} g/ml Noradrenalin (Bestimmung von k_M)

---

* Die Tabellen 12 bis 16 sind in einem Anhang (Abschnitt 2.5) zusammengefaßt.

Dosis 3: a) 1 x 10^{-7} g/ml Indometacin-Na
b) 1 x 10^{-7} g/ml Noradrenalin (Bestimmung von k)
Dosis 4: a) 2,5 x 10^{-7} g/ml Indometacin-Na
b) wie Dosis 3 b
Dosis 5: a) 5 x 10^{-7} g/ml Indometacin-Na
b) wie Dosis 3 b
Dosis 6: wie Dosis 2

Indometacin-Na wurde jeweils unmittelbar vor (Methode I) oder 10 Minuten vor Noradrenalin (Methode II) verabreicht. Die Einwirkzeit dauerte bis zum Erreichen des Kontraktionsmaximums nach Noradrenalin-Gabe.

Methode III (Indometacin-Na nach Noradrenalin):
Dosis 1: 2,5 x 10^{-9} g/ml Noradrenalin (Aktivierung)
Dosis 2:
a) 1 x 10^{-7} g/ml Noradrenalin (Bestimmung von k_M)
b) 1 x 10^{-7} g/ml Indometacin-Na
Dosis 3:
a) wie Dosis 2 a
b) 2,5 x 10^{-7} g/ml Indometacin-Na
Dosis 4:
a) wie Dosis 2 a
b) 5 x 10^{-7} g/ml Indometacin-Na

Indometacin-Na wurde jeweils dann verabreicht, wenn die Präparate ein Kontraktionsplateau er-

reicht hatten. Die Einwirkzeit dauerte jeweils 20 Minuten.
Pro Versuchstag konnte eine Dosisreihe grprüft werden.

Kontrolle : Lösungsmittelkontrolle zu Indometacin

Statistik

I. 1. MANOVA

Zielgrößen : $(k^i)_{i = 1-3}$ Meßwertvektor bei den konsekutiven Indometacin- bzw. Kontroll-Dosen

Faktoren : Einwirkzeiten (3 Faktorstufen), Dosisreihen (5 Faktorstufen, die Kontrolle wurde bei jeder Applikationsmethode als 1. Dosisreihe eingesetzt

Zielgrößen : $(t^i_{k/2})_{i = 1-3}$ analog zu (k^i)

Faktoren : Einwirkzeiten (2 Faktorstufen), Dosisreihen (Faktorstufen siehe (k^i))

Zielgrößen : $(t^i_{R/2})_{i = 1-3}$ analog zu (k^i)

Faktoren : Dosisreihen (Faktorstufen siehe (k^i))

2. Orthogonale Zerlegung

II. k_M und $t_{k/2}$ vor Indometacin-Na-Gabe und nach Auswaschen der letzten Indometacin-Na-Gabe (2. bzw. 6. Dosis) wurden pro Applikationsmethode und Dosisreihe im t-Test für verbundene Stichproben verglichen.

Befunde

Die mittlere maximale Kontraktionskraft k_M der Aortenabschnitte (bestimmt zu Versuchsbeginn) betrug bei den einzelnen Gruppen zwischen 1,34 ± 0,07 p und 1,71 ± 0,09 p. Die Zeit bis zum Erreichen der halbmaximalen Kontraktionskraft betrug dabei zwischen 56 ± 2 s und 68 ± 3 s.

Nach Applikation der höchsten, geprüften Dosis von Indometacin-Na (5×10^{-4} g/ml Badflüssigkeit) trat bei den Applikationsmethoden I und II eine starke Schaumentwicklung in den Organgefäßen auf. Während das Badflüssigkeitsvolumen bei Methode I hierdurch nicht verändert wurde, verringerte es sich bei Methode II durch Überlaufen. Ein Ausfall von Indometacin-Na aus der Lösung konnte jedoch nicht beobachtet werden, die Konzentration der Prüfsubstanz in der Badflüssigkeit blieb also unverändert.

Zur besseren Verdeutlichung der Ergebnisse ist die Beeinflussung der Kontraktionskraft (Methoden I, II, III) in Abbildung 3 graphisch dargestellt.

Die Lösungsmittelkontrolle (Tabelle 12) beeinflußte die Kontraktionskraft und -geschwindigkeit der Aortenabschnitte praktisch nicht. Ein geringfügiger Abfall der Kontraktionskraft um maximal 8 % bei Methode III war vor allem dadurch bedingt, daß durch die lange Verweildauer (Zeit bis zur maximalen Kontraktion + 20 min = 40 min) in der mit O_2 + CO_2 durchströmten Nährlösung Noradrenalin sich zum Teil zersetzte. Die hierdurch bewirkte Verringerung der Noradrenalin-Konzentration führte - linear über die Zeit - zu dem beobachteten Abfall der Kontraktionskraft. Diese Linearität drückte sich darin aus, daß die halbmaximale Relaxation (höchstens ca. 4 %) ungefähr nach der Hälfte der gesamten Relaxationszeit von 20 min erreicht war (vergleiche $t_{R/2}$).

Abbildung 3: Wirkung von Indometacin-Na auf die Kontraktionskraft isolierter, spiralig geschnittener Aortenabschnitte von Ratten nach Gabe von 10^{-7} g/ml Noradrenalin, korrigiert um nicht durch die Prüfsubstanz bewirkte Veränderungen bei den Lösungsmittelkontrollen (N = 8).

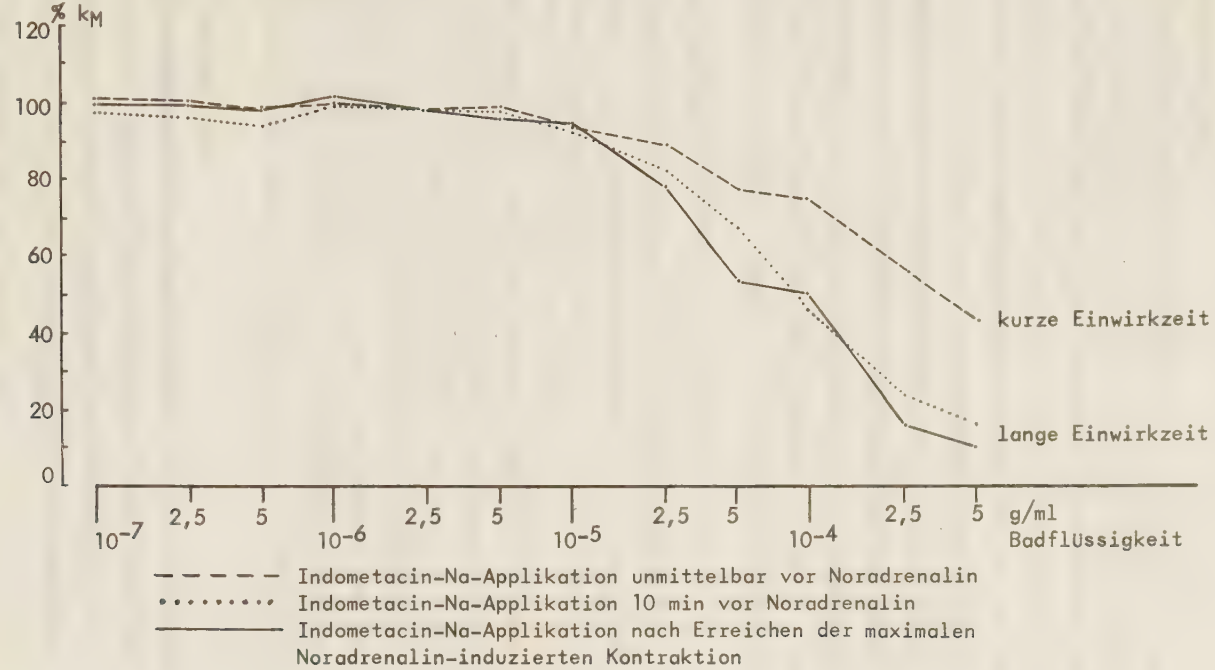
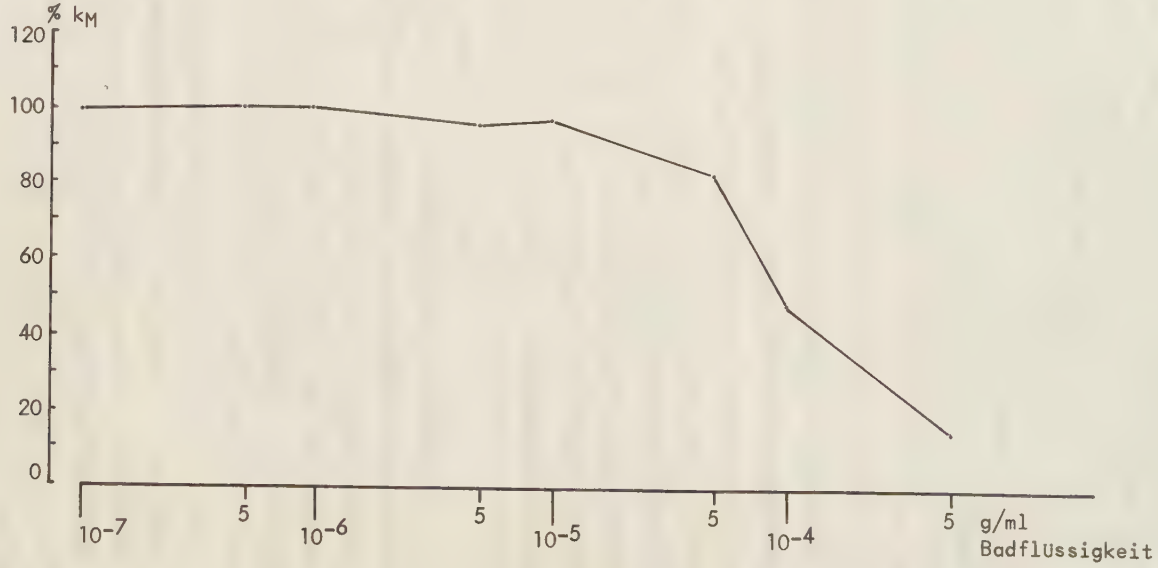


Abbildung 4: Wirkung von Indometacin-Na auf die Kontraktionskraft isolierter, spiralig geschnittener Aortenabschnitte von Ratten nach Depolarisation mit 47 mM K^+, korrigiert um nicht durch die Prüfsubstanz bewirkte Veränderungen bei den Lösungsmittelkontrollen (N = 6).



Indometacin-Na verminderte die Kontraktionskraft der Aortenabschnitte bei allen Einwirkzeiten dosisabhängig. Während diese Wirkung bis zu einer Dosis von 5×10^{-6} g/ml praktisch noch nicht bedeutsam und statistisch nicht signifikant war, verstärkte sie sich ab der zweiten Dosisreihe (1×10^{-5} bis 5×10^{-5} g/ml) und wurde statistisch signifikant ($p \leq 0{,}01$).

Der Grad der durch die jeweiligen Dosen bewirkten Relaxation war von ihrer Einwirkzeit abhängig ($p \leq 0{,}01$). Die Zeit bis zur halbmaximalen Kontraktion $t_{k/2}$ war nach Gabe von Indometacin-Na bei beiden Methoden gleich vermindert (statistisch nicht signifikant) und entsprach in etwa der dosisabhängigen Verminderung der Kontraktionskraft ab ca. 1×10^{-5} g/ml.

Im Gegensatz hierzu wurde die Zeit bis zur halbmaximalen Relaxation $t_{R/2}$ (Methode III) durch die verschiedenen Prüfsubstanzdosen unterschiedlich beeinflußt. Bis zu einer Dosis von 1×10^{-4} g/ml Indometacin-Na war sie durch relativ starke Schwankungen charakterisiert und zeigte trotz Abnahme der Kontraktionskraft auf maximal 42 ± 2 % keine dosisabhängige Verminderung. Hingegen war bei einer Dosis von $2{,}5 \times 10^{-4}$ g/ml eine starke Erhöhung der Relaxationsgeschwindigkeit festzustellen, die sich auch nach Gabe der höchsten, geprüften Dosis fortsetzte.

Das maximale Kontraktionsvermögen der Aortenabschnitte, das am Versuchsende nach Auswaschen der Prüfsubstanz aus den Organbädern durch eine zweite Dosis von 1×10^{-7} g/ml Noradrenalin erneut bestimmt wurde, war nur geringfügig um maximal 7 % (nach Gabe von Indometacin-Na) bzw. 3 % (Lösungsmittelkontrolle) niedriger. Eine bleibende Schädigung der Kontraktionskraft durch Indometacin-Na konnte daher auch nach Gabe der höchsten Dosisreihe nicht beobachtet werden.

Die in gleicher Weise bestimmte Kontraktionsgeschwindigkeit nach Gabe von 10^{-7} g/ml Noradrenalin war bei den Kontrollen und den ersten beiden Dosisreihen von Indometacin-Na in der Regel ebenfalls nicht verringert.

Dagegen wurde bei Methode III am Versuchsende schon nach der zweiten Dosisreihe eine biologisch relevante Verlängerung von $t_{k/2}$ um ca. 35 % gefunden ($p \leq 0,05$). Nach Gabe der dritten Dosisreihe war $t_{k/2}$ nach Auswaschen der Prüfsubstanz wie folgt verlängert:

Methode	III	I	II
	+ 153 %	+ 87 %	+ 84 %
	$p \leq 0,05$	$p \leq 0,05$	$p \leq 0,01$

Bei Methode III (längere Einwirkzeit) bewirkten also bereits 1×10^{-5} bis 5×10^{-5} g/ml eine bleibende Schädigung ($p \leq 0,01$), während die Kontraktionsgeschwindigkeit bei kürzerer Einwirkzeit (Methode I und II) von Indometacin-Na erst nach Gabe hoher Dosen verringert war, und auch dann nur ca. halb so stark.

Adrenalin-induzierte Kontraktion (Tabelle 15)

Die in den oben angeführten Untersuchungen gefundene Verringerung der Noradrenalin-induzierten Kontraktion stand im Widerspruch zu Befunden von ALTURA und ALTURA (1976). Diese Autoren fanden an Aortenstreifen von Wistar-Ratten nach vorheriger Gabe von Indometacin eine Potenzierung der Adrenalin-induzierten Kontraktion. Es wurde versucht, die zitierten Ergebnisse zu reproduzieren. Der Versuch wurde daher in möglichst enger Anlehnung an die von den genannten Autoren angewandte Methodik durchgeführt, d.h. unter anderem unter Verwendung einer Adrenalin-Dosis, die zu einer ca. 50 %igen Kontraktion (Kontraktionskraft k_A) der Präparate führte.

Hierzu wurde in Vorversuchen eine Dosis-Wirkungs-Kurve für Adrenalin erstellt. Daraus ergab sich eine ED_{50} von 10^{-9} g/ml Adrenalin.

Versuchsbedingungen

Versuchstiere : Wistar-Ratten

Dosierung : 1 Dosisreihe (10^{-7} bis 10^{-4} g/ml)

Applikation : Nach Methode I, Seite 56. Statt 1 x 10^{-7} g/ml Noradrenalin wurden jeweils 1 x 10^{-9} g/ml Adrenalin verabreicht. Die letzte Dosis (2. Bestimmung von k_M, der im vorliegenden Fall einer 2. Bestimmung von k_A entsprochen hätte) entfiel.

Statistik

1. MANOVA

Zielgrößen: $(k^i)_{i = 1-4}$ Meßwertvektor bei den konsekutiven Indometacin- bzw. Kontroll-Dosen analog zu (k^i)

$(t^i_{k/2})_{i = 1-4}$

Faktoren : Behandlungen (2 Faktorstufen)

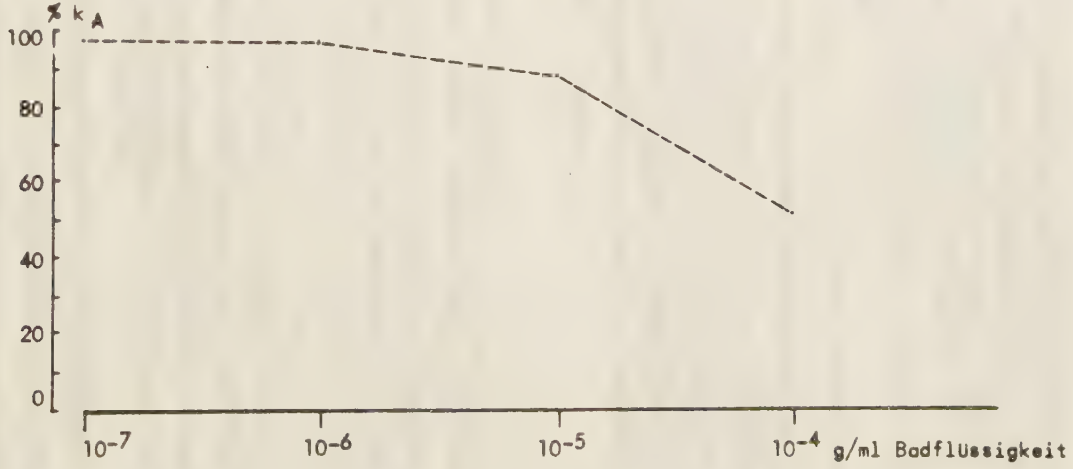
2. ANOVA (als Folgetest zur Interpretationshilfe der MANOVA-Ergebnisse)

Zielgrößen und Faktoren siehe MANOVA

Befunde

Die mittlere Kontraktionskraft der Aortenabschnitte nach Gabe von Adrenalin allein betrug 0,84 ± 0,12 p ($t_{k/2}$ = 72 ± 7 s) bzw. 0,93 ± 0,15 p ($t_{k/2}$ = 62 ± 11 s) bei der Kontrollgruppe.

Abbildung 5: Wirkung von Indometacin-Na auf die Kontraktionskraft (k_A) isolierter, spiralig geschnittener Aortenabschnitte von Ratten nach Gabe von 10^{-9} g/ml Adrenalin (N = 4), korrigiert um nicht durch die Prüfsubstanz bewirkte Veränderungen bei den Lösungsmittelkontrollen (N = 3).



Bei der Kontrollgruppe war nach Gabe weiterer Adrenalin-Dosen noch ein geringfügiger Anstieg der Kontraktionskraft und der Kontraktionsgeschwindigkeit (Abnahme von $t_{k/2}$!) zu beobachten.

Demgegenüber verringerte Indometacin ab einer Dosis von 10^{-5} g/ml die Kontraktionskraft dosisabhängig (vergleiche auch Abbildung 5). Diese Wirkung konnte allerdings erst bei 10^{-4} g/ml statistisch gesichert werden. Dies lag vermutlich an dem geringen Stichprobenumfang.

$t_{k/2}$ nahm im Gegensatz zu k erst bei der Dosis 10^{-4} g/ml Indometacin ab. Auch dann war die (statistisch signifikante) Abnahme relativ kleiner als die von k. Somit wurde auch die Kontraktionsgeschwindigkeit durch Indometacin verringert.

2.1.2. Paracetamol (Tabelle 14)

Es sollte die dosisabhängige Beeinflussung der Noradrenalin-induzierten Kontraktion durch Paracetamol in Abhängigkeit von dessen Einwirkungsdauer untersucht werden. Nach den Erfahrungen mit Indometacin erschien es ausreichend, nur die zwei unterschiedlichsten Applikationsformen bei vergrößerten Dosis-Intervallen zu prüfen.

Versuchsbedingungen

Versuchstiere	:	Wistar-Ratten
Dosierung	:	1 Dosisreihe (10^{-7} bis 10^{-3} g/ml)
Applikation	:	Analog zu den Methoden I und III (Seiten 56,57
Kontrolle	:	Lösungsmittelkontrolle zu Paracetamol

Statistik

1. MANOVA

   Zielgrößen: $(k^i)_{i = 1-5}$ Meßwertvektor bei den konsekutiven Paracetamol- bzw. Kontroll-Dosen

   Faktoren : Behandlungen (2 Faktorstufen), Einwirkzeiten (2 Faktorstufen)

   Zielgrößen: $(t^i_{k/2})_{i = 1-5}$ analog zu (k^i)

   $(t_{R/2})_{i = 1-5}$ analog zu (k^i)

   Faktoren : Behandlungen (2 Faktorstufen)

2. ANOVA (als Folgetest zur Interpretationshilfe der MANOVA-Ergebnisse)

   Zielgrößen und Faktoren siehe MANOVA

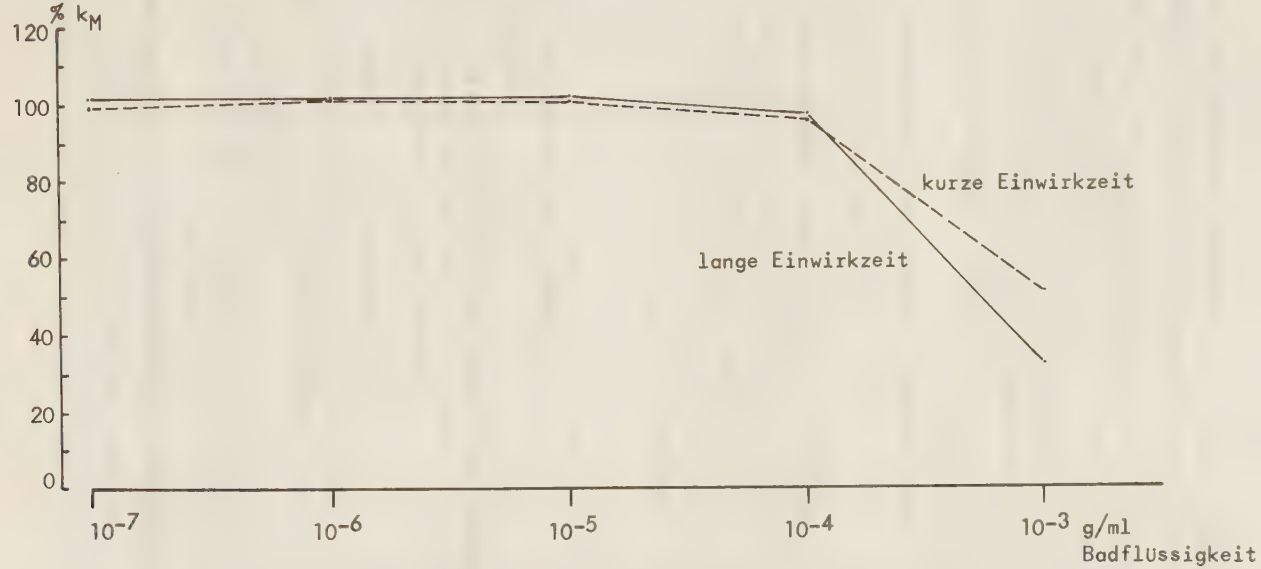
Befunde

Die mittlere, maximale Kontraktionskraft k_M betrug bei den einzelnen Gruppen zwischen 1,08 ± 0,06 p und 1,18 ± 0,07 p. Die Zeit bis zum Erreichen der halbmaximalen Kontraktionskraft $t_{k/2}$ betrug dabei 34 ± 3 s bis 53 ± 5 s.

Die Kontrolle beeinflußte diese Parameter praktisch nicht.

10^{-4} g/ml Paracetamol bewirkten - anders als die gleiche Dosis Indometacin in den bereits geschilderten Untersuchungen - nur eine sehr geringfügige Verminderung der Kontraktionskraft, die jedoch statistisch gesichert werden konnte. P. appl. von 10^{-3} g/ml Paracetamol - diese Dosis wurde bei den Untersuchungen von Indometacin nicht mehr geprüft - wurde die Kontraktionskraft der Präparate maximal auf ca. 1/3 des Vorwertes verringert ($p \leq 0,01$). Die Stärke der

Abbildung 6: Wirkung von Paracetamol auf die Kontraktionskraft isolierter, spiralig geschnittener Aortenabschnitte von Ratten nach Gabe von 10^{-7} g/ml Noradrenalin, korrigiert um nicht durch die Prüfsubstanz bewirkte Veränderungen bei den Lösungsmittelkontrollen (N = 8).



– – – – – Paracetamol-Applikation unmittelbar vor Noradrenalin
———— Paracetamol-Applikation nach Erreichen der maximalen Noradrenalin-induzierten Kontraktion

Relaxation war von der Länge der Einwirkzeit statistisch signifikant abhängig.

$t_{k/2}$ (Methode I) wurde im Vergleich hierzu nur wenig vermindert ($p > 0,05$). Der Parameter $t_{R/2}$ (Methode III) zeigte - auch bei der Kontrolle - starke Schwankungen, so daß hieraus keine weiteren Informationen gewonnen werden konnten.

Weder das maximale Kontraktionsvermögen noch die Kontraktionsgeschwindigkeit waren bei ihrer 2. Bestimmung am Versuchsende verringert. Paracetamol bewirkte somit - anders als Indometacin - keine länger anhaltende Schädigung der Präparate.

2.2. Wirkung von Indometacin auf die durch K^+-Depolarisation bewirkte Kontraktion (Tabelle 13)

Versuchsbedingungen

Versuchstiere : Wistar-Ratten

Dosierung : K^+ 47 mM

Indometacin 1×10^{-7}, 5×10^{-7}, 1×10^{-6}, 5×10^{-6}, 1×10^{-5}, 5×10^{-5}, 1×10^{-4}, 5×10^{-4} g/ml

Applikation : Die Dosen 1×10^{-7} g/ml bis 5×10^{-6} g/ml wurden konsekutiv verabreicht. Alle weiteren Dosen wurden in Einzelversuchen geprüft. Die Einwirkzeit dauerte bis zum Relaxationsmaximum.

Kontrolle : Lösungsmittelkontrolle zu Indometacin

Statistik

I. Für die Dosen 1×10^{-7} bis 5×10^{-6} g/ml:

1. MANOVA

Zielgrößen : $(k^i)_{i = 1-4}$ Meßwertvektor bei den konsekutiven Indometacin- bzw. Kontroll-Dosen

Faktoren : Behandlungen (2 Faktorstufen), Tiere (6 Faktorstufen)

2. ANOVA (als Folgetest zur Interpretationshilfe der MANOVA-Ergebnisse)

Zielgrößen und Faktoren siehe MANOVA

II. Für die Dosen 1×10^{-5} bis 5×10^{-4} g/ml:

2-Stichproben-t-Test von k

Befunde

Die mittlere maximale Kontraktionskraft k_M betrug bei den einzelnen Gruppen 0,83 ± 0,05 p bis 1,13 ± 0,08 p.

Sie wurde nach Gabe der Lösungsmittelkontrolle um höchstens 4 % vermindert.

Die Relaxationszeit $t_{R/2}$ konnte wegen der geringen Änderungen der Kontraktionskraft weder bei der Kontrollgruppe noch nach Gabe von Indometacin bis zu einer Dosis von 1×10^{-5} g/ml exakt ermittelt werden. Nach Applikation höherer Dosen wies dieser Parameter erhebliche, individuelle Schwankungen auf.

Eine Verminderung der Kontraktionskraft durch Indometacin konnte erstmalig p. appl. von 5×10^{-6} g/ml beobachtet werden.

Diese Wirkung steigerte sich ab 5×10^{-5} g/ml dosisabhängig (k_{min}: 11 ± 2 %) und war durchgehend statistisch signifikant ($p \leq 0,05$ bei 5×10^{-6} und 1×10^{-5} g/ml bzw. $p \leq 0,001$ nach Gabe höherer Dosen). Ein Vergleich der Dosis-Wirkungs-Kurven in den Abbildungen 3 und 4 zeigt eine gute Übereinstimmung zwischen den Wirkungen von Indometacin auf die durch K^+-Depolarisation bzw. durch Noradrenalin verursachten Kontraktionen.

2.3 Wirkung einer vorherigen Inkubation mit Meclofenamsäure auf die durch Indometacin bewirkte Relaxation Noradrenalin-kontrahierter Aortenabschnitte (Tabelle 16)

Wenn die Abschwächung der Noradrenalin-induzierten Kontraktion durch Indometacin auf eine Hemmung der Prostaglandin (PG)-Synthetase zurückzuführen wäre, würde eine vorherige Hemmung der PG-Synthetase durch Meclofenamsäure sowohl eine Verringerung der Noradrenalin-induzierten Kontraktion wie auch der Relaxation nach Gabe von Indometacin bewirken. Zur Prüfung dieser Frage wurde eine Konzentration von Meclofenamsäure gewählt, deren Hemmwirkung auf die PG-Synthetase aus der Literatur bekannt ist (FLOWER 1974; PANCZENKO et al. 1975; STONE et al. 1975; HAMAMDZIC, MALIK 1976).

Versuchsbedingungen

Versuchstiere : Wistar-Ratten

Dosierung : Meclofenamsäure:
1×10^{-6} g/ml
Indometacin:
1 Dosisreihe (10^{-7} bis 10^{-4} g/ml)

Applikation : Dosis 1 : $2{,}5 \times 10^{-9}$ g/ml Noradrenalin (Aktivierung)
Dosis 2 : 1×10^{-7} g/ml Noradrenalin (Bestimmung von k_M)
Dosis 3 a): 1×10^{-6} g/ml Meclofenamsäure
b) 1×10^{-7} g/ml Noradrenalin (Bestimmung von k_M)
c) 1×10^{-7} g/ml Indometacin-Na
Dosis 4-6 : wie Dosis 3, aber steigende Indometacin-Na-Konzentrationen

Meclofenamsäure wurde jeweils 10 Minuten vor Noradrenalin appliziert. Indometacin-Na wurde jeweils dann verabreicht, wenn die Präparate p. appl. von Noradrenalin ein Kontraktionsplateau erreicht hatten, die Einwirkzeit betrug 20 Minuten.

Kontrolle : Lösungsmittelkontrolle zu Meclofenamsäure

Befunde

Die mittlere maximale Kontraktionskraft k_M betrug 1,20 ± 0,09 g ($t_{k/2}$ = 45 ± 2 s) bzw. 1,19 ± 0,09 g (Kontrollgruppe, $t_{k/2}$ = 43 ± 2 s).

Beide Parameter wurden durch die 10-minütige Einwirkung von Meclofenamsäure nicht verändert.

Auch die Relaxation der Aortenabschnitte nach Gabe von Indometacin-Na wurde durch Meclofenamsäure praktisch nicht beeinflußt (vergl. Tabelle 16). Das gleiche gilt für die Zeit bis zur halbmaximalen Relaxation.

2.4 Wirkung von PGE_2

2.4.1 Wirkung von PGE_2 auf Noradrenalin-kontrahierte Aortenabschnitte

Versuchsbedingungen

Versuchstiere	:	Wistar-Ratten
Dosierung	:	1×10^{-8}, 5×10^{-8}, 1×10^{-7} g/ml PGE_2
Applikation	:	analog zu Methode III (vergleiche Seite 57) Statt Indometacin wurde PGE_2 appliziert.
Kontrolle	:	Lösungsmittelkontrolle zu PGE_2

Befunde

Die mittlere maximale Kontraktionskraft k_M betrug zu Versuchsbeginn 0,94 ± 0,07 p ($t_{k/2}$ = 53 ± 5 s) bzw. 0,99 ± 0,13 p (Kontrolle, $t_{k/2}$ = 47 ± 4 s). Auch Schwankungen bei den folgenden Noradrenalin-induzierten Kontraktionen blieben innerhalb dieses Intervalls.

Nach Applikation von PGE_2 änderte sich die Kontraktionskraft der Präparate praktisch nicht (maximaler Abfall: 2 ± 0 %, Kontrolle 0 ± 2 %).

2.4.2. Wirkung von PGE_2 auf relaxierte Aortenabschnitte

Versuchsbedingungen

Versuchstiere	:	Wistar-Ratten
Dosierung	:	1×10^{-10}, 1×10^{-9}, 1×10^{-8}, 1×10^{-7}, 1×10^{-6} g/ml PGE_2

Applikation : Dosis 1 : 2,5 x 10^{-9} g/ml Noradrenalin (Aktivierung)
Dosis 2 : 1 x 10^{-7} g/ml Noradrenalin (Bestimmung von k_M)
Dosis 3-7 : steigende Konzentration von PGE_2
Kontrolle : Lösungsmittelkontrolle zu PGE_2

Befunde

k_M betrug bei den Aortenabschnitten, denen anschließend PGE_2 verabreicht wurde, 1,32 ± 0,03 p ($t_{k/2}$ = 41 ± 4 s, N = 8) und bei der Kontrollgruppe 1,33 ± 0,14 p ($t_{k/2}$ = 43 ± 7 s, N = 4).

Die Lösungsmittelkontrolle beeinflußte die Präparate nicht.

PGE_2 besaß bis zu einer Dosis von 1 x 10^{-7} g/ml ebenfalls keine Wirkung. Erst 10^{-6} g/ml bewirkten eine Kontraktion der Aortenabschnitte (k = 53 ± 12 % von k_M). Die Kontraktionsgeschwindigkeit war hierbei deutlich geringer als nach Gabe von Noradrenalin. Die individuellen Schwankungen dieses Parameters waren stärker ausgeprägt ($t_{k/2}$ = 416 ± 76 s).

2.4.3 Wirkung von PGE_2 auf die durch Indometacin bewirkte Relaxation Noradrenalin-kontrahierter Aortenabschnitte

Versuchsbedingungen

Versuchstiere : Wistar-Ratten
Dosierung : a) PGE_2:
1 x 10^{-8} g/ml
Indometacin-Na:
1 Dosisreihe (10^{-7} bis 10^{-4} g/ml)

b) PGE_2:
5×10^{-8} g/ml
Indometacin-Na:
wie a)

Applikation : analog zu Methode III (Seite 57)
PGE_2 wurde stets unmittelbar vor der jeweiligen Indometacin-Na-Dosis appliziert. Pro Versuch wurde jeweils nur eine PGE_2-Dosis geprüft.

Kontrolle : Lösungsmittelkontrolle zu PGE_2

Statistik

MANOVA

Zielgrößen: k, $t_{R/2}$

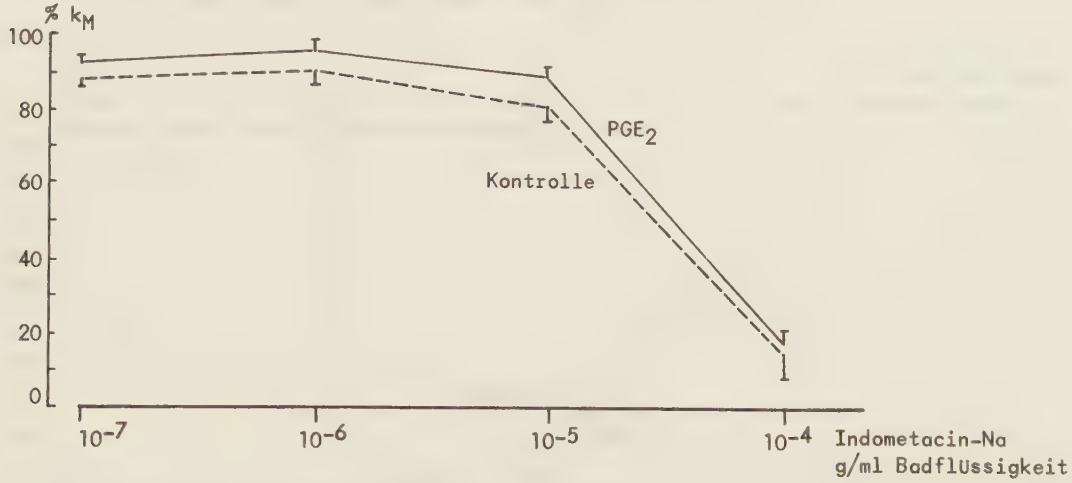
Faktoren : Behandlungen (2 Faktorstufen), Tiere (8 Faktorstufen)

Es wurde jeweils für 1×10^{-8} und 5×10^{-8} g/ml PGE_2 eine MANOVA durchgeführt.

Befunde

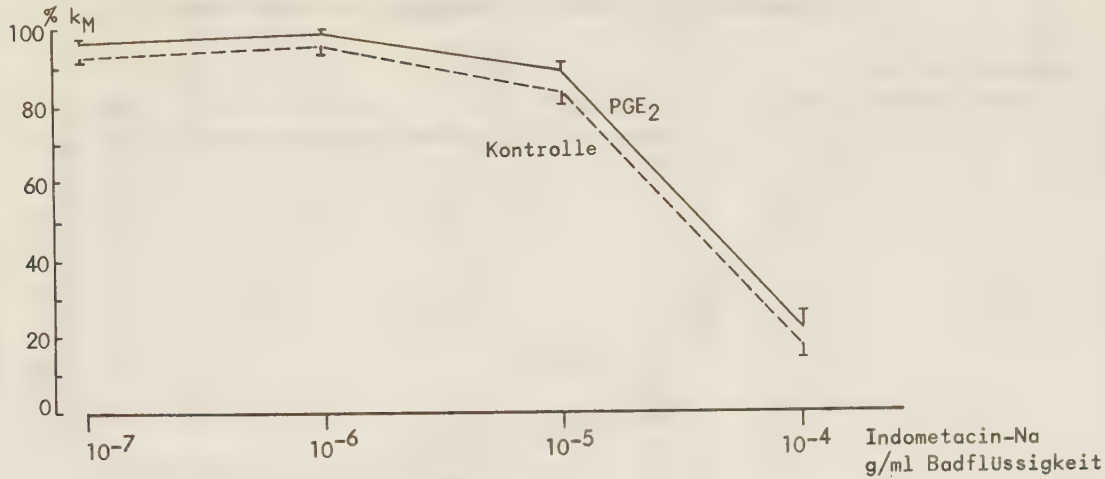
Wie aus den Abbildungen 7 a, b ersichtlich, unterschied sich die durch Indometacin-Na verursachte Verringerung der Kontraktionskraft nach Gabe von PGE_2 nur geringfügig von der bei der Kontrollgruppe. Die prozentuale Kontraktionskraft der Aortenabschnitte war in der Regel durchschnittlich um ca. 5 % höher als bei der Kontrollgruppe. Die einzelnen Abschnitt-Paare reagierten aber unterschiedlich. So war k (in % von k_M) bei 2 bzw. 3 Abschnitten, denen 1×10^{-8} bzw. 5×10^{-8} g/ml PGE_2 appliziert wurden, niedriger als bei den entsprechenden Abschnitten von denselben Tieren bei der Kontrollgruppe. Daher wurden auch keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen gefunden. Die Relaxationszeit $t_{R/2}$ wurde durch PGE_2 ebenfalls nicht signifikant beeinflußt.

Abbildung 7 a: Wirkung von 1×10^{-8} g/ml PGE_2 auf die durch Indometacin-Na bewirkte Relaxation isolierter, spiralig geschnittener Aortenabschnitte von Ratten nach Kontraktion durch 10^{-7} g/ml Noradrenalin (N = 8).



Die Säulen geben die Standardabweichungen der Mittelwerte an.

Abbildung 7 b: Wirkung von 5 x 10^{-8} g/ml PGE_2 auf die durch Indometacin-Na bewirkte Relaxation isolierter, spiralig geschnittener Aortenabschnitte von Ratten nach Kontraktion durch 10^{-7} g/ml Noradrenalin (N = 8).



Die Säulen geben die Standardabweichungen der Mittelwerte an.

2.5. Anhang: Tabellen zu den Abschnitten 2.1 - 2.4

Tabelle 12: Wirkung von Indometacin-Na nach unterschiedlicher Applikation auf die Kontraktionskraft und Kontraktionsgeschwindigkeit (Methoden I, II) bzw. Relaxationsgeschwindigkeit (Methode III) isolierter, spiralig geschnittener Aortenabschnitte von Ratten nach Gabe von 10^{-7} g/ml Noradrenalin (N = 8).

Methode / Dosis g/ml	I				II				III			
	Indometacin		Kontrolle		Indometacin		Kontrolle		Indometacin		Kontrolle	
	k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]	k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]	k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]	k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]	k [% k_M]	$t_{R/2}$ [s]	k [% k_M]	$t_{R/2}$ [s]
	MW ± SE											
1 10^{-7}	100 1	62 4	99 1	62 7	98 1	75 2	101 2	74 6	97 1	444 44	98 1	671 145
2,5 x 10^{-7}	101 2	57 3	101 2	54 7	100 1	61 3	104 2	67 4	94 1	469 73	95 2	741 82
5 x 10^{-7}	99 2	58 3	101 1	64 10	98 2	64 2	104 2	66 4	94 1	404 32	96 1	696 90
1 x 10^{-6}	97 2	78 5	98 1	73 4	96 1	92 4	97 1	94 6	94 1	498 78	93 1	641 31
2,5 x 10^{-6}	96 2	80 3	98 1	69 6	96 1	76 3	98 1	79 5	90 1	555 45	92 3	631 55
5 x 10^{-6}	96 1	75 4	98 1	70 6	95 2	78 4	97 1	78 5	88 1	574 41	92 3	625 91
1 x 10^{-5}	91 2	72 8	98 1	73 4	89 2	82 4	97 1	94 6	87 1	490 43	93 1	641 31
2,5 x 10^{-5}	86 2	57 6	98 1	69 6	80 3	60 5	98 1	79 5	69 4	470 42	92 3	631 55
5 x 10^{-5}	75 3	41 5	98 1	70 6	64 3	44 5	97 1	78 5	45 8	482 24	92 3	625 91
1 x 10^{-4}	72 3	35 4	98 1	73 4	42 5	32 3	97 1	94 6	42 4	503 38	93 1	641 31
2,5 x 10^{-4}	54 4	28 3	98 1	69 6	22 3	24 2	98 1	79 5	8 2	284 31	92 3	631 55
5 x 10^{-4}	41 5	23 3	98 1	70 6	13 3	25 3	97 1	78 5	2 1	182 16	92 3	625 91

Tabelle 13: Wirkung von Indometacin-Na auf die Kontraktionskraft und Relaxationsgeschwindigkeit isolierter, spiralig geschnittener Aortenabschnitte nach Depolarisation mit 47 mM K^+ (N = 6).

Dosis	Indometacin		Kontrolle	
	k	$t_{R/2}$	k	$t_{R/2}$
g/ml	% k_M	s	% k_M	s
	MW ± SE			
1×10^{-7}	97 1	n.m.	99 1	
5×10^{-7}	98 0	n.m.	99 1	
1×10^{-6}	98 1	n.m.	99 1	
5×10^{-6}	94 1	n.m.	99 0	n.m.
1×10^{-5}	94 1	n.m.	98 1	
5×10^{-5}	78 4	475 81	96 3	
1×10^{-4}	44 6	1550 426	96 3	
5×10^{-4}	11 2	468 83	96 3	

n.m. = nicht meßbar

Tabelle 14: Wirkung von Paracetamol nach unterschiedlicher Applikation auf die Kontraktionskraft und -geschwindigkeit (Methode I) bzw. Relaxationsgeschwindigkeit (Methode III) isolierter, spiralig geschnittener Aortenabschnitte von Ratten nach Gabe von 10^{-7} g/ml Noradrenalin (N = 8).

Methode / Dosis g/ml	I				III			
	Paracetamol		Kontrolle		Paracetamol		Kontrolle	
	k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]	k [% k_M]	$t_{k/2}$ [s]	k [% k_M]	tR/2 [s]	k [% k_M]	tR/2 [s]
	MW ± SE							
1 x 10^{-7}	101 2	53 5	102 3	49 4	99 1	316 138	98 1	135 84
1 x 10^{-6}	102 2	47 2	101 4	46 3	98 1	266 189	97 1	303 80
1 x 10^{-5}	102 2	51 2	102 3	49 1	98 1	333 156	97 1	529 109
1 x 10^{-4}	98 2	45 4	103 3	45 3	93 1	163 14	97 0	352 86
1 x 10^{-3}	53 6	40 9	103 3	42 2	28 4	186 40	97 0	448 136

Tabelle 15: Wirkung von Indometacin-Na auf Kontraktionskraft (k_A) und Kontraktionsgeschwindigkeit ($t_{k/2}$) isolierter, spiralig geschnittener Aortenabschnitte von Ratten nach Gabe von 10^{-9} g/ml Adrenalin (N = 4, Kontrolle: N = 3)

	Indometacin		Kontrolle	
Dosis	k	$t_{k/2}$	k	$t_{k/2}$
	% k_A	s	% k_A	s
g/ml	MW ± SE			
1×10^{-7}	104 3	72 6	107 5	62 5
1×10^{-6}	103 5	70 9	107 8	57 10
1×10^{-5}	96 8	70 10	110 10	56 9
1×10^{-4}	57 11	47 2	107 11	58 4

Tabelle 16: Wirkung von Meclofenamsäure (10^{-6} g/ml) auf die durch Indometacin-Na bewirkte Relaxation isolierter, spiralig geschnittener Aortenabschnitte von Ratten nach Kontraktion durch 10^{-7} g/ml Noradrenalin (N = 7)

	Meclofenamsäure		Kontrolle	
Dosis Indometacin	k		k	
	[% k_M]		[% k_M]	
g/ml	MW ± SE			
1×10^{-7}	85	4	88	2
1×10^{-6}	87	3	89	2
1×10^{-5}	76	5	77	2
1×10^{-4}	26	10	24	8

DISKUSSION

1. Standardisierung des Versuchsmodells

Seit FURCHGOTT und BHADRAKOM (1953) und FURCHGOTT (1960) in Form der spiralig geschnittenen Kaninchen-Aorta ein empfindliches, verhältnismäßig leicht zu präparierendes in vitro-Modell zur Prüfung von pharmakologischen Wirkungen auf die Gefäßmuskulatur entwickelten, wurden an dieser Präparation zahlreiche Untersuchungen durchgeführt. Verschiedene Untersucher modifizierten den Versuchsaufbau, um den Einsatz anderer Tierspezies zu ermöglichen. So werden neben Kaninchen- vor allem auch Ratten-Aorten verwendet. Da die Angaben zur Methodik jedoch stark variieren, erschien es notwendig, unter den für das eigene Laboratorium spezifischen Bedingungen (charakterisiert vor allem durch die eingesetzten Rattenstämme, die Präparationsmethodik und die isometrische Meßmethode) optimale Größen für die wichtigsten Variablen (vor allem Nährlösung, Vorspannung, Bezugsgrößen) zu bestimmen.

Die hier vorgestellten Ergebnisse sind mit den in einschlägigen Veröffentlichungen beschriebenen grundsätzlich vergleichbar.

So fanden ALTURA und ALTURA (1970[1]) an isolierten, spiralig geschnittenen Kaninchen-Aorten, daß nach Inkubation in Glucose-freier Nährlösung eine Verminderung der Kontraktionskraft nach Gabe maximal wirksamer Konzentrationen von Adrenalin auftrat. Dies ist erklärlich, da nach Untersuchungen von LUNDHOLM und MOHME-LUNDHOLM (1962, 1965) an Rinder-Mesenterialarterien die glatte Gefäßmuskulatur für maximale Pharmakon-induzierte Kontraktionen mehr Energie verbraucht, als an präformierten, energiereichen Phosphaten im Muskel zur Verfügung steht und daher auf exogene Zufuhr von Substrat angewiesen ist. Das gilt besonders für isometrische im Vergleich zu

isotonischen Kontraktionen (LUNDHOLM, MOHME-LUNDHOLM 1965). Dementsprechend kontrahierten sich die Aortenpräparate in den vorliegenden Untersuchungen in Krebs-Ringer-Lösung am stärksten. Diese unterschied sich von den beiden anderen, getesteten Nährlösungen insbesondere durch einen höheren Glucosegehalt (10 mM gegenüber 4,54 bzw. 5,5 mM).

Die sowohl nach Noradrenalingabe wie auch bei K^+-Depolarisation beobachtete, positive Korrelation von Vorspannung und Kontraktionskraft wurde auch von SCHMIDT und PEIPER (1972) gefunden, die annahmen, daß durch eine Erhöhung der Belastung die Zahl der wirksamen Interaktionsorte für Ca^{++}-Ionen in der Muskelzelle nach deren Mobilisation durch Noradrenalin erhöht und dadurch eine verstärkte Kontraktion hervorgerufen wurde.

Auffallend ist der Unterschied zwischen der für eine maximale Spannungsentwicklung nach Noradrenalingabe - bei möglichst geringer Ermüdung über einen längeren Versuchszeitraum - optimalen Vorspannung bei Aortenpräparaten von Wistar- (2,5 p) und Sprague-Dawley-Ratten (4 p). Die Ursache hierfür könnte in unterschiedlichen Elastin- und Collagen-Gehalten des Aorten-Gewebes der beiden Stämme bestehen, ähnlich wie es von TODA et al. (1978) an Hand von spiralig geschnittenen Präparaten für Hunde-Arterien aus verschiedenen Versorgungsgebieten beschrieben wurde. Hierdurch ändert sich die Abhängigkeit der Vorspannung von der durch die Vordehnung bewirkten Längenänderung der Präparate. Nach TODA et al. wird die maximale, aktive Spannung bzw. Kontraktionskraft in dem Bereich entwickelt, in dem die Länge-Vorspannungs-Kurve am steilsten verläuft. Eine Änderung im Verlauf dieser Kurve könnte daher auch eine Änderung der optimalen Vorspannung zur Folge haben.

Die Dosis-Wirkungs-Kurven für Noradrenalin (Abbildung 2) zeigten für beide Stämme gute Übereinstimmung. Literaturangaben über das Wirkungsmaximum von Noradrenalin liegen bei einer Konzentration von 10^{-6} bis 10^{-5} g/ml. Auch in den hier beschriebenen Untersuchungen führten 10^{-7} g/ml übersteigende Noradrenalin-Dosen noch zu einem weiteren, allerdings geringen Anstieg der Kontraktionskraft. Dennoch wurde für weitere Untersuchungen die Kontraktionskraft nach 10^{-7} g/ml Noradrenalin als Bezugsgröße verwendet, weil nicht auszuschließen war, daß eine höhere Konzentration bereits eine Ermüdung der Präparate hervorrufen und so nachfolgende Kontraktionen negativ beeinflussen könnte. Da zudem höhere Noradrenalin-Konzentrationen nur eine geringfügige Verstärkung der Kontraktionskraft verursachten (maximal + 4 % bei 10^{-6} g/ml, vergl. Tabelle 5), wurde dieser Fehler vernachlässigt und die erreichte Kontraktionskraft nach 10^{-7} g/ml als Maß für das maximale Kontraktionsvermögen der Präparate verwendet.

Während, wie oben erwähnt, gute Übereinstimmung zwischen der in eigenen Untersuchungen gefundenen Dosis-Wirkungs-Kurve von Noradrenalin und diesbezüglichen Literaturangaben besteht, weichen die Ergebnisse bezüglich K^+ von den Befunden von ALTURA und ALTURA (1970[2], 1975), die ihre Untersuchungen ebenfalls unter Verwendung von Krebs-Ringer-Lösung durchführten, ab. Während bei den Untersuchungen dieser Autoren das Wirkungsmaximum der K^+-Depolarisation bei 80 mM K^+ lag, bewirkte in der vorliegenden Arbeit eine Erhöhung der K^+-Konzentration von 47 auf 84,7 mM keine weitere Verstärkung der Kontraktionskraft. Dies könnte durch das unterschiedliche Vorgehen bei Erhöhung der K^+-Ionen-Konzentration bedingt sein. Während ALTURA und ALTURA K^+ zu Krebs-Ringer-Lösung mit normaler Na^+-Konzentration zugaben und so gleichzeitig mit der Erhöhung der K^+-Konzentration auch den osmotischen Druck der Lösung erhöhten, wurde in den eigenen

Untersuchungen gleichzeitig mit der Erhöhung der K^+-Konzentration der Na^+-Gehalt äquimolar verringert und so der osmotische Druck konstant gehalten.

Sowohl nach Noradrenalingabe wie auch nach K^+-Depolarisation entwickelten proximale Aortenabschnitte eine stärkere Kontraktionskraft als distale. Gleiche Beobachtungen wurden von ALTURA und ALTURA (1970[2]) an in situ unterschiedlich gelegenen Segmenten von Kaninchenaorten gemacht. Als Ursache diskutierten die genannten Autoren insbesondere eine segmental unterschiedliche Verteilung von Rezeptoren bzw. von reagierenden Muskelzellen oder eine unterschiedlich starke, intrazelluläre Ca^{++}-Bindung. Trotz dieser Ergebnisse wurden für die eigenen Untersuchungen beide Abschnitte gleichwertig behandelt, da, wie bereits im Ergebnisteil erwähnt, die Streuungen der Meßergebnisse, die durch die unterschiedliche Lage der Abschnitte in situ bedingt waren, kleiner waren als die, die durch die interindividuellen Unterschiede der Tiere verursacht wurden. Durch Verwendung von 2 Abschnitten pro Tier konnten so die Zahl der eingesetzten Tiere verringert und die interindividuell bedingten Streuungen minimiert werden.

2. Untersuchungen zur Gefäßwirkung von Indometacin und Paracetamol

Wie bereits in der Einleitung dargelegt, beruht die entzündungshemmende Wirkung von Indometacin mit großer Wahrscheinlichkeit auf einer Hemmung der Prostaglandin (PG)-Synthetase. Speziell Prostaglandine der E-Reihe greifen in die Blutdruckregulation ein, indem sie die Wirkung von blutdrucksteigernden Überträgerstoffen gegenregulatorisch abschwächen. Hiermit steht in Einklang, daß nach Applikation von Indometacin unter bestimmten Bedingungen der Blutdruck bei verschiedenen Spezies, darunter auch der Ratte, ansteigt.

Dennoch vermindert Indometacin in die PG-Synthetase hemmenden Dosen die durch Noradrenalin bewirkte Steigerung des Perfusionsdrucks im mesenterialen Gefäßbett der Ratte (HORROBIN, MANKU 1974).

Als erster Untersucher beobachtete NORTHOVER (1967, 1968, 1971), daß Indometacin in hoher Dosierung (mindestens 10^{-5} g/ml Badflüssigkeit) die Wirkung unterschiedlicher, vasokonstriktorischer Pharmaka auf glattmuskuläre Präparationen des Meerschweinchens und der Ratte, darunter auch die isolierte Arteria mesenterica cranialis, hemmt. Aufgrund weiterer Untersuchungen (1968, 1971, 1972, 1973), darunter auch an der Ratten-Aorta, gelangte NORTHOVER zu der Ansicht, daß die Wirkung von Indometacin auf die glatte Gefäßmuskulatur durch eine Beeinflussung zellulärer Calciumströme oder der Interaktion von Calcium-Ionen mit dem kontraktilen Mechanismus zustande käme.

In den vorliegenden Untersuchungen bewirkte Indometacin-Na ab einer Dosis von ca. 10^{-5} g/ml (entsprechend 0,94 x 10^{-5} g/ml Indometacin) eine Verringerung der Noradrenalin-induzierten Kontraktionskraft. Die ID_{50} (Dosis für 50 %ige Verringerung) betrug bei einer Einwirkzeit von mindestens 10 Minuten nahezu 10^{-4} g/ml. Weitgehend ähnliche Dosen ergaben sich auch bei der Verringerung der K^+-induzierten

Kontraktionskraft (kleinste wirksame Dosis : 5×10^{-6} g/ml, ID_{50}: ca. 10^{-4} g/ml). In Anbetracht der guten Übereinstimmung der Indometacin-Wirkungen gegenüber den verschieden herbeigeführten Kontraktionen ist anzunehmen, daß in beiden Fällen der gleiche Wirkungsmechanismus zugrundeliegt.

Noradrenalin und K^+ unterscheiden sich in der Art der Kontraktionsauslösung. Während Noradrenalin über adrenerge α-Rezeptoren an der glatten Muskelzelle angreift (AHLQUIST 1948), bewirkt eine Erhöhung der extrazellulären K^+-Konzentration, wie sie in den vorliegenden Untersuchungen vorgenommen wurde, eine Depolarisierung der Zellmembran (SU, BEVAN 1963). Noradrenalin führt - vermutlich über eine Verminderung des intrazellulären c-AMP-Gehalts (ROBISON, SUTHERLAND 1970; VOLICER, HYNIE 1971) - zu einer Freisetzung von intrazellulär gebundenem Ca^{++} (VAN BREEMEN, LESSER 1971; VAN BREEMEN et al. 1972). Dagegen kommt bei der K^+-Depolarisation der Gefäßmuskulatur vorwiegend extrazelluläres oder an der Zelloberfläche locker gebundenes Ca^{++} zur Wirkung (HINKE 1965; HUDGINS, WEISS 1968). Diese Erkenntnisse wurden überwiegend an Kaninchen-Aorten gewonnen. Nach Untersuchungen von PEIPER et al. (1971) gelten sie jedoch auch für die Ratten-Aorta.

Angesichts der Unterschiedlichkeit der Anfangsstufen des durch Noradrenalin bzw. K^+ eingeleiteten Erregungs-Kontraktions-Mechanismus einerseits und der guten Übereinstimmung der Indometacin-Wirkung auf beide Kontraktionen andererseits ist es unwahrscheinlich, daß die Relaxation der Aortenstreifen durch eine Beeinflussung dieser Stufen erfolgte. Unter Berücksichtigung auch der Untersuchungen von NORTHOVER ist daher ein Eingreifen in die allen vasopressorischen Pharmaka gemeinsame Endstrecke dieses Mechanismus anzunehmen. Es besteht heute Übereinkunft, daß diese durch eine Vermehrung des intrazellulären,

für die kontraktilen Proteine verfügbaren Ca^{++} und schließlich durch dessen Bindung an bestimmte Komponenten des Actin-Myosin-Systems charakterisiert ist (SHANES 1958; EICHNA 1962; HONIG 1963; BOHR 1964; CALDWELL 1968; SOMLYO, SOMLYO 1968; BOHR 1973; FORD 1976), wobei es im Falle der glatten Muskulatur vermutlich an einen Bestandteil des Myosins gebunden wird (MURPHY 1976).

Grundsätzlich könnte die Beeinflussung dieser Mechanismen durch Indometacin sowohl über eine Hemmung der PG-Synthetase wie auch auf andere, unspezifische Weise erfolgen.

Am mesenterialen, arteriellen Gefäßbett der Ratte konnte gezeigt werden, daß die Hemmung vasopressorischer Reize durch Indometacin mit großer Wahrscheinlichkeit über eine Hemmung der PG-Synthetase zustande kommt.

HORROBIN et al. (1974) berichteten von einer vollständigen Unterdrückung der Noradrenalin-induzierten Steigerung des Perfusionsdrucks im isolierten, perfundierten Versorgungsgebiet der Arteria mesenterica cranialis durch Infusion von 1×10^{-6} g/ml Indometacin. Sie konnte durch zusätzliche Infusion von PGE_1 teilweise und von PGE_2 (10^{-8} g/ml) nahezu vollständig rückgängig gemacht werden. In späteren Untersuchungen der gleichen Forschungsgruppe konnten diese Befunde auch auf die Wirkung weiterer Vasokonstriktoren (Vasopressin, Histamin, Ca^{++}, K^{+}) ausgedehnt werden (MANKU, HORROBIN 1976). Hierbei ergab sich eine gute Korrelation zwischen den depressorisch wirksamen Indometacin-Dosen (1×10^{-6} bis $6{,}4 \times 10^{-5}$ g/ml; IC_{50}: ca. 7×10^{-6} g/ml) und den zur vollständigen Kompensation notwendigen PGE_2-Konzentrationen (9×10^{-11} bis $5{,}05 \times 10^{-9}$ g/ml). Auffällig ist, daß in der letztgenannten Untersuchung 64-mal höhere Indometacin-Konzentrationen zur vollständigen Unterdrückung der

Noradrenalin-induzierten Gefäßkontraktion notwendig waren; dies erklärt sich aber vermutlich aus der Verwendung 100-fach höherer Noradrenalin-Dosen. Die Autoren schlossen aus diesen Untersuchungen, die auch mit anderen PG-Synthetase-Hemmstoffen ähnliche Ergebnisse brachten, daß möglicherweise Prostaglandine im Erregungs-Kontraktionsmechanismus der arteriellen Gefäßmuskulatur des Ratten-Mesenteriums eine notwendige Funktion besäßen. Inzwischen wurde diese These dahingehend modifiziert, daß für die durch K^+-Depolarisation bewirkte Kontraktion PGE_2, für die durch Noradrenalin hervorgerufene jedoch Thromboxan A_2 notwendig ist, eine Substanz, die bei der körpereigenen PGE_2-Synthese entsteht (HAMBERG et al. 1975). Thromboxan A_2 kann aber durch PGE_2 in genügend hoher Konzentration ersetzt werden (ALLY et al. 1977).

Zur gleichen Folgerung wie HORROBIN et al. (1974) und MANKU, HORROBIN (1976) kamen COUPAR und McLENNAN (1978), die Indometacin am gleichen Modell in Dosen von 1×10^{-5} bis $6{,}2 \times 10^{-5}$ g/ml untersuchten und dabei ab der ersten Dosis eine starke, allerdings bis zur höchsten Dosis keine vollständige Unterdrückung der Noradrenalin-induzierten Perfusionsdruckerhöhung fanden.

MALIK et al. (1976) beobachteten - ebenfalls am gleichen Modell - eine mehr als 60 %ige Hemmung der Druckerhöhung nach elektrischer Stimulation des periarteriellen Nervenplexus und nach Gabe von Noradrenalin durch 5×10^{-6} g/ml Indometacin. In gleicher Konzentration verhinderte die Substanz die Potenzierung Noradrenalin-induzierter Druckerhöhungen durch Arachidonsäure, das Substrat für die körpereigene Synthese von PGE_2. Zusammen mit der Tatsache, daß auch PGE_2 die Wirkung adrenerger Reize potenziert, führte dies die letztgenannten Autoren ebenfalls zu dem Schluß, daß die beobachtete Indometacin-Wirkung auf einer Hemmung der PG-Synthetase beruhe.

Ein gleicher Wirkungsmechanismus von Indometacin wurde auch an der isolierten, perfundierten Ratten-Niere postuliert, an der die Substanz ebenfalls die Blutdruckerhöhung nach elektrischer Nerven-Stimulation und nach Gabe von Noradrenalin verminderte (MALIK, McGIFF 1975). Dem widersprechen allerdings Befunde von NEEDLEMAN et al. (1974), wonach die durch elektrische Stimulation induzierte Vasokonstriktion der isolierten Ratten-Niere durch Indometacin verstärkt wird (danach käme den Prostaglandinen an der Niere eher eine modulatorische Wirkung bei pressorischen Reizen zu).

An der isolierten Ratten-Aorta beobachteten ALTURA und ALTURA (1976) eine Potenzierung der Adrenalin- und K^+-induzierten Kontraktion durch Indometacin und 5,8,11,14-Eicosatetrainsäure, ein die PG-Synthetase hemmendes Acetylen-Analog der Arachidonsäure (AHERN, DOWNING 1970) in Konzentrationen von 1×10^{-6} und 5×10^{-6} g/ml. Eine derartige Reaktion konnte in den vorliegenden Untersuchungen bei keiner der getesteten Konzentrationen beobachtet werden. Das gilt auch für die Adrenalin-induzierte Kontraktion, bei der die Methodik der genannten Autoren - soweit bekannt - übernommen wurde. Allerdings fehlten in der zitierten Veröffentlichung einige Angaben, deren Kenntnis für einen exakten Nachvollzug dieser Experimente notwendig gewesen wäre, so ist z.B. unbekannt,in welcher Reihenfolge und mit welchen Einwirkzeiten die Testsubstanzen verabreicht wurden. In eigenen Untersuchungen zeigte 5,8,11,14-Eicosatetrainsäure an relaxierten Ratten-Aortenpräparaten eine - vermutlich unspezifische - vasokonstriktorisch Wirkung. Es wäre daher möglich, daß der von ALTURA und ALTURA beschriebene, potenzierte Adrenalin-Effekt tatsächlich nur eine Summation der Adrenalin- und der 5,8,11,14-Eicosatetrainsäure-Wirkung ist. Für die unterschiedlichen Ergebnisse nach Gabe von Indometacin kann allerdings keine Erklärung gegeben werden.

Während in den oben zitierten Untersuchungen an isolierten Mesenterien und Nieren der Ratte die vasodilatierende Wirkung von Indometacin auf eine Hemmung der PG-Synthetase zurückgeführt werden konnte, sprechen die eigenen Untersuchungen an Ratten-Aorten nicht für einen solchen Mechanismus.

Zunächst fällt auf, daß Indometacin-Na an der Ratten-Aorta eine Dilatation erst in Konzentrationen bewirkte, die erheblich höher waren als diejenigen, von denen an Mesenterial- und Nierengefäßen eine PG-Synthetase-hemmende Wirkung gezeigt werden konnte (HORROBIN et al. 1974; MANKU, HORROBIN 1976; COUPAR, McLENNAN 1978; MALIK et al. 1976; MALIK, McGIFF 1975). Hierfür könnte zwar die nachgewiesene, unterschiedliche Empfindlichkeit verschiedener Gewebe (FLOWER 1974) Ursache sein, dennoch ist es nicht sehr wahrscheinlich, daß die glatte Muskulatur von Aorta und Mesenterialgefäßen innerhalb einer Spezies Empfindlichkeitsunterschiede aufweist, die bei der Aorta zu einer Verzehnfachung der kleinsten, wirksamen Dosis führen.

Gegen eine Beteiligung der PG-Synthetase-Hemmung an der Aortendilatation durch Indometacin spricht weiterhin die fehlende Beeinflussung durch Meclofenamsäure. Diese Substanz ist ein im Vergleich zu Indometacin noch stärker wirksamer Hemmstoff der PG-Synthetase (FLOWER 1974). Die vorherige Äquilibrierung mit Meclofenamsäure mußte somit zu einer zumindest teilweisen Inaktivierung dieses Enzyms führen. Für die darauffolgende Einwirkung von Indometacin stand somit nur noch ein Teil der PG-Synthetase zur Verfügung. Demzufolge hätte bei einer Beteiligung der PG-Synthetase an der Vasodilatation

a) die Kontraktionskraft der mit Meclofenamsäure äquilibrierten Präparate nach Gabe von Noradrenalin kleiner

b) die Relaxation nach Indometacin-Gabe weniger stark

sein müssen als bei der Kontrollgruppe.

Weder die Kontraktionskraft noch Gabe von Noradrenalin noch die Relaxation noch Applikation von Indometacin zeigten jedoch Unterschiede im Vergleich zu der nicht mit Meclofenamsäure vorbehandelten Kontrollgruppe.

Als wichtigster Hinweis kann jedoch das Fehlen einer signifikanten Beeinflussung der durch Indometacin bewirkten Relaxation durch PGE_2 gelten. Die Arbeitsgruppe um HORROBIN und MANKU hatte in den oben zitierten Untersuchungen eine nahezu vollständige Antagonisierung der durch Indometacin hervorgerufenen Vasodilatation der arteriellen Mesenterialgefäße nach Gabe von PGE_2 gefunden. Wenn auch die Relaxation der Aorta durch Indometacin Folge einer Verminderung der PG-Synthese gewesen wäre, so hätte die exogene Zufuhr von PGE_2 eine ähnliche Wirkung wie am Mesenterium zeigen müssen, zumal gleiche Konzentrationen verwendet wurden.

Die Indometacin-Wirkung an der Aorta muß daher über andere Mechanismen zustande gekommen sein.

Es ist bekannt, daß die Substanz in einer Konzentration von 10^{-5} g/ml die Phosphodiesterase-Aktivität verringert (FLORES, SHARP 1972). Obwohl die Funktion von c-AMP bei der Regulation der vaskulären Kontraktionen noch nicht ausreichend geklärt ist (eine Literaturübersicht zu diesem Problem geben NAMM und LEADER 1976), wären doch nach den bisherigen Erkenntnissen folgende Abläufe denkbar.
Die Hemmung der Phosphodiesterase durch Indometacin führt zu einer Erhöhung des intrazellulären c-AMP-Gehalts. Dies hat eine vermehrte Speicherung von Ca^{++} in Zellorganellen zur Folge (BAUDOUIN-LEGROS, MEYER 1973; VAN BREEMEN 1977), wahrscheinlich insbesondere im Sarkoplasmatischen Retikulum (SOMLYO, SOMLYO 1975). Hierdurch wird der Gehalt an freiem, für die Muskelkontraktion verfügbarem Ca^{++}

reduziert. Es ist somit denkbar, daß die ab einer Dosis von ca. 10^{-5} g/ml beobachtete Relaxation sowohl der Katecholamin- wie auch der K^+-kontrahierten Aortenpräparate durch eine Hemmung der Phosphodiesterase verursacht wurde.

Die ab einer Dosis von $2,5 \times 10^{-4}$ g/ml Indometacin-Na erhöhte Relaxationsgeschwindigkeit deutet auf eine veränderte Wirkqualität. WHITEHOUSE (1964) zeigte, daß Indometacin in einer Mindestkonzentration von ca. 10^{-4} g/ml die oxidative Phosphorylierung entkoppelt, d.h. es verringert ohne Eingriff in den oxidativen Metabolismus und in die Zellatmung die Biogenese von Adenosintriphosphat (ATP). Da die Muskelkontraktion ATP-abhängig ist, kann daher nicht ausgeschlossen werden, daß Indometacin-Na in Konzentrationen von 2,5 bis 5×10^{-4} g/ml auch über diesen Mechanismus die Dilatation der Aortenpräparate verstärkte.

In der Therapie wird Indometacin im allgemeinen nicht in höheren Einzeldosen als 100 mg/Mensch verabreicht. Die tägliche Gesamtdosis soll 150 mg/Mensch nicht überschreiten (WOODBURY, FINGL 1975). Hierbei können maximal Plasmaspiegel von 5×10^{-6} bis ca.15×10^{-6} g/ml Indometacin erreicht werden (ALVAN et al. 1975; ANTONIN et al. 1976). Ähnliche Verhältnisse wie beim Menschen liegen diesbezüglich auch bei der Ratte vor (REINICKE et al. 1977). Ca. 90 % der Plasmakonzentration werden an Eiweiß gebunden (HVIDBERG et al. 1972).

Somit sind nach Gabe therapeutischer Dosen maximal ca. $1,5 \times 10^{-6}$ g/ml im Plasma gelöst, die unmittelbar pharmakologisch wirksam werden können. Es ist daher nicht anzunehmen, daß die in den vorliegenden Untersuchungen beobachteten Wirkungen von Indometacin beim therapeutischen Einsatz der Substanz in Erscheinung treten könnten.

RIOUX et al. (1977) beobachteten, daß die Aorta thoracica der Ratte PG-artige Substanzen bildet, wobei es sich wahrscheinlich um PGE_1 und PGE_2 handelt. Die Produktion dieser Substanzen wurde durch Indometacin in einer Konzentration von 1×10^{-6} g/ml vollständig gehemmt (RIOUX, REGOLI 1975). Es ist daher anzunehmen, daß auch in den vorliegenden Untersuchungen die PG-Synthetase gehemmt und damit die PG-Produktion verringert wurde. Anders als am Ratten-Mesenterium scheint aber an der Aorta dieser Spezies das Vorhandensein von Prostaglandinen für die Auslösung einer Kontraktion durch vasoaktive Substanzen nicht notwendig zu sein. Hierfür spricht auch die fehlende Potenzierung der Noradrenalin-induzierten Kontraktion durch PGE_2, die im Gegensatz zur Aorta am Mesenterium beobachtet wird (MALIK et al. 1976; COUPAR, McLENNAN 1978).

Die relaxierte Aorta kontrahierte sich erst nach Gabe von 1×10^{-6} g/ml PGE_2. Dies stimmt mit Angaben von ALTURA (1976), ALTURA und EDGARIAN (1976) und LEVY (1974, 1975) überein. Da Prostaglandine an den durch sie beeinflußten Organen meist in erheblich niedrigeren Konzentrationen wirksam sind, kann aus den Ergebnissen geschlossen werden, daß PGE_2, obwohl es in der Gefäßwand der Aorta produziert wird, in der Regulation der Kontraktilität dieses Gefäßes keine Rolle spielt.

Die Aorta der Ratte scheint daher kein geeignetes Modell für die Prüfung von Prostaglandinen auf vaskuläre Wirkungen zu sein.

Während Indometacin an den arteriellen Mesenterialgefäßen der Ratte eine Abschwächung der durch Noradrenalin und andere Pharmaka induzierten Konstriktion bewirkt, zeigt es an den Arteriolen der quergestreiften Muskulatur der gleichen Spezies einen entgegengesetzten Effekt. MESSINA et al. (1975) konnten zeigen, daß Indometacin im Musculus cremaster eine Potenzierung der Noradrenalin- und Angiotensin-induzierten Vasokonstriktion hervorruft. An der Ratten-Niere liegen gegensätzliche Beobachtungen vor (MALIK, McGIFF 1975; NEEDLEMAN et al. 1974). Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, daß Prostaglandine in unterschiedlichen Gefäßgebieten sowohl als Mediatoren wie auch als Modulatoren der Wirkungen vasopressorischer Pharmaka auftreten können.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß es daneben auch Teile des arteriellen Gefäßsystems gibt, deren Konstriktion nach Gabe von Vasopressoren nicht durch Prostaglandine beeinflußt wird.

Neben ihren genannten mediatorischen und modulatorischen Effekten können Prostaglandine den Blutdruck vermutlich auch über eine Hemmung der Noradrenalin-Freisetzung aus den adrenergen Nervenendigungen im vaskulären Gewebe beeinflussen (HEDQVIST 1977).

Die Verminderung der Prostaglandin-Synthese durch Indometacin hat daher unterschiedliche Wirkungen zur Folge, deren Summe erst den Effekt auf den systemischen Blutdruck ergibt. So läßt sich erklären, daß Indometacin auch bei längerer, oraler Verabreichung von 2 mg/kg/Tag keine Veränderung des Blutdrucks wacher, normotoner Ratten hervorruft (PUGSLEY et al. 1975).

Gleiche Beobachtungen konnten an wachen, normotonen Kaninchen nach täglicher i.m. Gabe von 10 mg/kg KG gemacht werden (MUIRHEARD, BROOKS 1976), bei denen einzelne Gefäßgebiete ebenfalls unterschied-

lich auf Indometacin reagieren (WENNMALM 1977). Auch beim wachen Hund verändert Indometacin nach i.v. Applikation von 10 mg/kg den Blutdruck nicht (SWAIN et al. 1975), während die Substanz nach Infusion bzw. nach mehrmaliger oraler Gabe beim wachen Menschen eine - allerdings geringe - Blutdruckerhöhung hervorruft (NOWAK, WENNMALM 1978; PATAK et al. 1975).

Am wachen, intakten Organismus zumindest einiger Spezies scheint somit die Antagonisierung pressorischer Hormonwirkungen durch gefäßerweiternde Prostaglandine entweder nur eine geringe Rolle zu spielen oder in der Summe durch andere Effekte ausgeglichen zu werden. Die Ausschaltung dieser Mechanismen führt daher nicht oder nur zu geringen Blutdruckerhöhungen.

Erst bei Zuständen, die eine Verminderung der Nierendurchblutung bewirken (experimentelle renale Hypertonie, Blutumverteilung bei Narkose) scheint dieses offenbar vorwiegend für die Nierendurchblutung bedeutsame, antihypertensive Prinzip (McGIFF, VANE 1975; STASZEWSKA-BARCZAK, VANE 1975; SWAIN et al. 1975) wichtig zu werden. Dies äußert sich dann in einem Blutdruckanstieg nach Gabe von Indometacin (DAVIS, HORTON 1972; GRODZINSKA et al. 1974; JANCZEWSKA, HERBACZINSKA-CEDRO 1974; SCHÖLKENS 1974; PUGSLEY et al. 1975; SWAIN et al 1975; ROMERO, STRONG 1977[1,2]; PAULSON, EVERSOLE 1977).

Über eine relaxierende Wirkung von Paracetamol auf die glatte Gefäßmuskulatur ist bisher nichts bekannt. Dies ist erklärlich, da in den hier behandelten Untersuchungen ein derartiger Effekt auch bei einer Konzentration von 10^{-4} g/ml erst andeutungsweise vorhanden war. Eine deutliche Relaxation der Präparate konnte erst bei einer Konzentration von 10^{-3} g/ml beobachtet werden. Derartig

hohe Plasmakonzentrationen treten jedoch in vivo selbst nach Einnahme bzw. Gabe toxischer Dosen weder bei Menschen (THOMSON, PRESCOTT 1966; VAN HEIJST et al 1976) noch bei Ratten (SIEGERS et al 1978) auf.

Da, wie oben ausgeführt, eine Hemmung der PG-Synthetase keine Auswirkung auf die Kontraktionskraft der durch Noradrenalin kontrahierten Ratten-Aorten hat, kann ausgeschlossen werden, daß die durch Paracetamol bewirkte Relaxation an diesem Modell durch einen derartigen Mechanismus bewirkt wurde. Hierfür müssen demnach andere, "unspezifische" Mechanismen verantwortlich sein.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Das Versuchsmodell "isolierte, spiralig geschnittene Ratten-Aorta", mit dem Substanzwirkungen auf die glatte Gefäßmuskulatur erkannt werden können, wurde standardisiert und so ausgebaut, daß synchron mit 4 Aorten-Präparaten gearbeitet werden kann.

Für die Untersuchungen wurden 286 Wistar- und 122 Sprague-Dawley-Ratten (♂, 215 - 420 g) verwendet.

Die Versuchsbedingungen wurden unter dem Gesichtspunkt einer möglichst hohen Kontraktionskraft der Präparate bei geringer Ermüdung über einen längeren Zeitraum optimiert. Meßparameter waren die isometrische Kontraktionskraft und die Zeit bis zum Erreichen der halbmaximalen Kontraktionskraft nach Gabe von Noradrenalin oder nach Erhöhung der K^+-Konzentration in der Nährlösung bzw. die Kontraktionskraft und die Zeit bis zur halbmaximalen Relaxation K^+-depolarisierter Aortenpräparate nach Gabe von Natrium-Nitroprussid.

Von drei geprüften Nährlösungen erwies sich eine Krebs-Ringer-Lösung mit verhältnismäßig hohem Glucose-Gehalt (10 mM) als besonders geeignet.

Für Aortenstreifen von Wistar-Ratten war die Vorspannung 2,5 p und von Sprague-Dawley-Ratten 4,0 p bei der Erzeugung Noradrenalin-induzierter Kontraktionen am besten geeignet.

Um langanhaltende Kontraktionen nach K^+-Depolarisation zur Prüfung auf vasodilatierende Wirkung zu erzeugen, mußte eine niedrigere Vorspannung von 1,5 p für Aortenstreifen von Wistar-Ratten verwendet werden. Die K^+-Konzentration war dabei 47 mM.

Aus beiden Versuchsreihen ergab sich, daß pro Tier 2 Aortenabschnitte (1 proximaler und 1 distaler) verwendet werden konnten. Die Kontraktionskraft der proximalen Streifen war zwar größer, die hierdurch verursachte, intraindividuelle Streuung der Meßergebnisse jedoch geringer als die interindividuelle Streuung.

2. Da die Frage beantwortet werden sollte, ob die isolierte Ratten-Aorta ein geeignetes Versuchsmodell zur Untersuchung von vaskulären Wirkungen von Prostaglandinen und Prostaglandin (PG)-Synthetase-Hemmstoffen ist, wurden die PG-Synthetase-Hemmstoffe Indometacin-Na (1×10^{-7} bis 5×10^{-4} g/ml Badflüssigkeit) und Paracetamol (1×10^{-7} bis 1×10^{-3} g/ml) untersucht. Hierfür wurden 176 Wistar- und 80 Sprague-Dawley-Ratten (♂, 250 bis 330 g KG) verwendet.

Indometacin-Na verringerte dosisabhängig die durch 10^{-7} g/ml Noradrenalin bzw. 10^{-9} g/ml Adrenalin induzierte Kontraktionskraft. Die Wirkungsstärke war nicht nur von der Dosis, sondern auch von der Einwirkzeit abhängig. Ab $2{,}5 \times 10^{-4}$ g/ml war die Relaxationsgeschwindigkeit der Präparate stark erhöht. Paracetamol dagegen verringerte erst in Konzentrationen von mindestens 10^{-4} g/ml die Noradrenalin-induzierte Kontraktionskraft.

Wurden die Präparate vorher mit Meclofenamsäure (10^{-6} g/ml) inkubiert, so wurden weder die Kontraktionskraft nach Noradrenalin-Gabe noch die Relaxation nach Applikation von Indometacin-Na beeinflußt.

Auch PGE_2 (1×10^{-8} und 5×10^{-8} g/ml) veränderte die Indometacin-Na-Wirkung nicht statistisch signifikant. Ebensowenig wurde die Kontraktionskraft nach Gabe von Noradrenalin durch PGE_2 (10^{-8} bis 10^{-7} g/ml) beeinflußt. Eine eigene, kontrahierende Wirkung von PGE_2 wurde erst nach Gabe von 10^{-6} g/ml beobachtet.

An K^+-depolarisierten Aortenabschnitten wurde durch Indometacin-Na die Kontraktionskraft in ähnlicher Weise wie an durch Noradrenalin kontrahierten Abschnitten verringert.

Die Ergebnisse lassen darauf schließen, daß PGE_2 an der Ratten-Aorta - anders als am Ratten-Mesenterium, an dessen Gefäßen Prostaglandine Mediatoren vasokonstriktorisch wirksamer Substanzen sind - keine physiologische Rolle in der Regulation der Kontraktilität spielt.

Die gefäßerweiternde Wirkung von Indometacin und Paracetamol an der Ratten-Aorta ist nicht auf eine Hemmung der PG-Synthetase, sondern vermutlich auf andere Mechanismen zurückzuführen.

Die Ratten-Aorta ist daher kein geeignetes Modell zur Untersuchung der vaskulären Wirkungen von Prostaglandinen und PG-Synthetase-Hemmstoffen.

SUMMARY

1. The isolated, spirally cut rat aorta is an experimental model which can be used for testing effects of substances on vascular smooth muscle. It has been standardized and enlarged so that 4 aortic preparations can be worked on simultaneously.

286 male Wistar and 122 male Sprague-Dawley rats (215 - 420 g B.W.) were used.

Experimental conditions were optimized to attain a maximal contractile force while fatique was kept to a minimum throughout the test.

The parameters were either the isometric contractile force induced by administration of norepinephrine and by elevation of K^+-concentration of the bath-solution, or the contractile force of K^+-depolarized aortic preparations after reduction by sodium nitroprusside. Accordingly the time to half the maximal contractile force or to half the maximal relaxation was also measured.

Of three different physiological salt solutions a Krebs-Ringer solution with a relatively high glucose content was found to be espacially suitable.

Optimal results were achieved by keeping aortic strips from Wistar and Sprague-Dawley rats under a resting tension of 2.5 p and 4.0 p respectively.

To produce long contractions by K^+-depolarization for tests on vasodilator effects a resting tension of only 1.5 p was chosen for aortic strips from Wistar rats. The best concentration of K^+ was 47 mM.

Both test series showed that per animal two aortic segments could be employed (one proximal and one distal). Though the contractile force developed by proximal segments was higher than that developed by distal ones, the intraindividual variance was less than that caused by differences between the animals.

2. In order to answer the question whether the isolated rat aorta is suitable for testing the vascular effects of prostaglandins (PGs) and PG-synthetase inhibitors, the PG-synthetase inhibitors indomethacin sodium (1×10^{-7} - 5×10^{-5} g/ml bath fluid) and paracetamol (1×10^{-7} - 1×10^{-3} g/ml) were tested.

   For this series 176 Wistar and 80 Sprague-Dawley rats (♂, 250 - 330 g B.W.) were used.

   Contractions caused by 10^{-7} and 10^{-9} g/ml norepinephrine and epinephrine respectively were diminished by indomethacin sodium in concentrations of 10^{-5} g/ml or higher. These effects were dependent upon both the doses and the incubation period. After 2.5×10^{-4} g/ml the preparations relaxed much faster.

   At least 10^{-4} g/ml of paracetamol were required to reduce the contractile force induced by norepinephrine.

Previous incubation with 10^{-6} g/ml meclofenamic acid had no effect on the norepinephrine-induced contraction nor on the relaxation by indomethacin sodium.

PGE_2 did not significantly influence either the effects of indomethacin sodium (1×10^{-8} and 5×10^{-8} g/ml PGE_2) or the norepinephrine-induced responses (10^{-8} - 10^{-7} g/ml PGE_2). PGE_2 alone caused the preparations to contract only after a dose of 10^{-6} g/ml.

The reactions of K^+-depolarized aortic segments to indomethacin sodium were similar to those of aortas contracted by norepinephrine.

It can be concluded that in the rat aorta PGE_2 plays no physiological rôle in the regulation of contractility, whereas in the rat mesentery PGE_2 is reported to be a mediator of vasoconstrictor agents.

The vasodilator effects of indomethacin and paracetamol on the rat aorta are not due to inhibition of PG-synthetase, but presumably to other mechanisms.

Therefore the rat aorta is not a suitable model for investigating the vascular effects of PGs and PG-synthetase inhibitors.

LITERATUR

AHERN D. G., DOWNING D. T.
Inhibition of prostaglandin biosynthesis by eicosa-5,8, 11,14-tetraynoic acid
Biochim. Biophys. Acta 210, 456 - 461 (1970)

AHLQUIST R. P.
A study of the adrenotropic receptors
Amer. J. Physiol. 153, 586 - 600 (1948)

ALLY A. I., MANKU M. S., HORROBIN D. F., MORGAN R. O., KARMAZIN M., KARMALI R. A.
Dipyridamole: a possible potent inhibitor of thromboxane A_2 synthetase in vascular smooth muscle
Prostaglandins 14, 607 - 609 (1977)

ALTURA B. M.
Prostaglandin induced relaxations and contractions of arterial smooth muscle: effects of anoxia and glucose
Artery 2, 18 - 25 (1976)

ALTURA B. M., ALTURA B. T.[1]
Differential effects of substrate depletion on drug--induced contractions of rabbit aorta
Am. J. Physiol. 219, 1698 - 1705 (1970)

ALTURA B. M., ALTURA B. T.[2]
Heterogeneity of drug receptors in different segments of rabbit thoracic aorta
Europ. J. Pharmacol. 12, 44 - 52 (1970)

ALTURA B. T., ALTURA B. M.
Barbiturates and aortic and venous smooth-muscle function
Anesthesiology 43, 432 - 444 (1975)

ALTURA B. M., ALTURA B. T.

Vascular smooth muscle and prostaglandins

Fed. Proc. 35, 2360 - 2366 (1976)

ALTURA B. M., EDGARIAN H.

Ethanol-prostaglandin interactions in contraction of vascular smooth muscle

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 152, 334 - 336 (1976)

ALVÁN G., ORME M., BERTILSSON L., EKSTRAND R., PALMÉR L.

Pharmacokinetics of indomethacin

Clin. Pharmacol. Ther. 18, 364 - 373 (1975)

ANTONIN K. H., KLOTZ U., BIECK P. R.

Correlation of plasma levels with cns side effects of indomethacin

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 294 (Suppl.), R 10

BAUDOUIN-LEGROS M., MEYER P.

Effects of angiotensin, catecholamines and cyclic AMP on calcium storage in aortic microsomes

Br. J. Pharmacol. 47, 377 - 385 (1973)

BLACKWELL G. J., DUNCOMBE W. G., FLOWER R. J., PARSONS M. F., VANE J. R.

The distribution and metabolism of arachidonic acid in rabbit platelets during aggregation and its modification by drugs

Br. J. Pharmac. 59, 353 - 366 (1977)

BOHR D. F.

Electrolytes and smooth muscle contraction

Pharmac. Rev. 16, 85 - 111 (1964)

BOHR D. F.

Vascular smooth muscle updated

Circ. Res. 32, 665 - 672 (1973)

VAN BREEMEN C.

Calcium requirement for activation of intact aortic smooth muscle

J. Physiol. 272, 317 - 329 (1977)

VAN BREEMEN C., FARINAS B. R., GERBA P., MC NAUGHTON E. D.

Excitation-contraction coupling in rabbit aorta studied by the lanthanum method by measuring cellular calcium influx

Circ. Res. 30, 44 - 54 (1972)

VAN BREEMEN C., LESSER P.

The absence of increased membrane calcium permeability during norepinephrine stimulation of arterial smooth muscle

Microvasc. Res. 3, 113 - 114 (1971)

CALDWELL P. C.

Factors governing movement and distribution of inorganic ions in nerve and muscle

Physiol. Rev. 48, 1 - 64 (1968)

COUPAR I. M., MC LENNAN P. L.

The influence of prostaglandins on noradrenaline-induced vasoconstriction in isolated perfused mesenteric blood vessels of the rat

Br. J. Pharmac. 62, 51 - 59 (1978)

DAVIS H. A., HORTON E. W.

Output of prostaglandins from the rabbit kidney, its increase on renal nerve stimulation and its inhibition by indomethacin

Br. J. Pharmacol. 46, 658 - 675 (1972)

DE FELICE A. F., JOINER P. D.

Comparison of aortic calcium and contractility in male, female and lactating female rats

J. Pharmacol. exp. Ther. 194, 191 - 204 (1975)

EICHNA L. W.

Vascular smooth muscle

Physiol. Rev. 42, Suppl. 5, 1 - 365 (1962)

FLORES A. G. A., SHARP G. W. G.

Endogenous prostaglandins and osmotic water flow in the toad bladder

Amer. J. Physiol. 233, 1392 - 1397 (1972)

FLOWER R. J.

Drugs which inhibit prostaglandin biosynthesis

Pharmacol. Rev. 26, 33 - 67 (1974)

FORD G. D.

Subcellular fractions of vascular smooth muscle exhibiting calcium transport properties

Fed. Proc. 35, 1298 - 1301 (1976)

FURCHGOTT R. F.

Spiral-cut strip of rabbit aorta for in vitro studies of responses of arterial smooth muscle

Meth. med. Res. 8, 177 - 186 (1960)

FURCHGOTT R. F., BHADRAKOM S.
Reactions of strips of rabbit aorta to epinephrine, isopropylarterenol, sodium nitrite and other drugs
J. Pharmacol. 108, 129 - 143 (1953)

GRODZIŃSKA L., SCHRÖR K., WARTNER U., FÖRSTER W., GRYGLEWSKI R.
Prostaglandin synthetase activity in the renal medulla of normal and hypertensive rats
Pol. J. Pharmacol. Pharm. 26, 229 - 235 (1974)

HAMAMDZIC M., MALIK K. U.
Effect of prostaglandins (PGs) on adrenergic responses in the isolated perfused rat pancreas
Pharmacologist 18, 115 (1976)

HAMBERG M., SVENSSON I., SAMUELSSON B.
Thromboxanes: A new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides
Proc. natn. Acad. Sci. U. S. A. 72, 2994 - 2998 (1975)

HAMBERG M., SVENSSON J., WAKABAYASHI T., SAMUELSSON B.
Isolation and structure of two prostaglandin endoperoxides that cause platelet aggregation
Proc. natn. Acad. Sci. U. S. A. 71, 345 - 349 (1974)

HEDQVIST P.
Basic mechanisms of prostaglandin action on autonomic neurotransmission
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 17, 259 - 279 (1977)

VAN HEIJST A. N. P., DOUZE J. M. C., PIKAAR S. A.
Paracetamol-vergifting
Ned. Tijdschr. Geneesk. 120, 1151 - 1155 (1976)

HINKE J. A. M.

Calcium requirements for noradrenaline and high potassium ion contraction in arterial smooth muscle
In: Paul W. M., Daniel E. E., Kay C. M., Monckton G. Muscle
New York: Pergamon Press 1965 (p 269 - 285)

HONIG C. R.

The intrinsic properties and functional organization of vascular smooth muscle
In: Orbison J. L., Smith D. E.
The peripheral blood vessels
Baltimore: Williams u. Wilkins 1963 (p 73 - 91)

HORROBIN D. F., MANKU M. S., KARMALI R., NASSAR B. A., DAVIES P.

Aspirin, indomethacin, catecholamine and prostaglandin interactions on rat arterioles and rabbit hearts
Nature 250, 425 - 426 (1974)

HUDGINS P. M., WEISS G. B.

Differential effects of calcium removal upon vascular smooth muscle contraction induced by norepinephrine, histamine and potassium
J. Pharmacol. Exp. Ther. 159, 91 - 97 (1968)

HVIDBERG E., Lausen H. H., Jansen J. A.

Indomethacin: plasma concentrations and protein binding in man
Europ. J. clin. Pharmacol. 4, 119 - 124 (1972)

JANCZEWSKA H., HERBACZYŃSKA-CEDRO K.

Effect of indomethacin on vascular responses to vaso-active agents in working skeletal muscles in the dog
Pol. J. Pharmacol. Pharm. 26, 159 - 166 (1974)

KREYE V. A. W.
Untersuchungen zum zellulären Wirkungsmechanismus vasodilatatorischer Pharmaka unter besonderer Berücksichtigung von Natrium-Nitroprussid
Habilitationsschrift, Univ. Heidelberg (1974)

KUKOVETZ W. R., POECH G., HOLZMANN S., PAIETTA E.
Pharmacological properties of fendiline in cardiac and smooth muscle
Arzneim.-Forsch. 26, 1321 - 1330 (1976)

LUNDHOLM L., MOHME-LUNDHOLM E.
Studies on the effects of drugs upon the lactic acid metabolism and contraction of vascular smooth muscle
Acta physiol. scand. 55, 45 - 63 (1962)

LUNDHOLM L., MOHME-LUNDHOLM E.
Energetics of isometric and isotonic contraction in isolated vascular smooth muscle under anaerobic conditions
Acta physiol. scand. 64, 275 - 282 (1965)

LEVY J. V.
Differences in papaverine inhibition of prostaglandin--induced contraction of aortic strips from normal and spontaneously hypertensive rats (SHR)
Europ. J. Pharmacol. 25, 117 - 120 (1974)

LEVY J. V.
Verapamil and diazoxide antagonism of agonist-induced contractions of aortic strips from normal and spontaneously hypertensive rats (SHR)
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 11, 387 - 404 (1975)

MALIK K. U., MC GIFF J. C.

Modulation by prostaglandins of adrenergic transmission in the isolated perfused rabbit and rat kidney
Circ. Res. 36, 599 - 609 (1975)

MALIK K. U., RYAN P., MC GIFF J. C.

Modification by prostaglandins E_1 and E_2, indomethacin, and arachidonic acid of the vasoconstrictor responses of the isolated perfused rabbit and rat mesenteric arteries to adrenergic stimuli
Circ. Res. 39, 163 - 168 (1976)

MANKU M. S., HORROBIN D. F.

Indomethacin inhibits responses to all vasoconstrictors in the rat mesenteric vascular bed: restoration of responses by prostaglandin E_2
Prostaglandins 12, 369 - 377 (1976)

MC GIFF J. C., VANE J. R.

Prostaglandins and the regulation of blood pressure
Kidney Intern. 8, 262 - 270 (1975)

MELLANDER S., JOHANSSON B.

Control of resistance, exchange and capacitance functions in the peripheral circulation
Pharmacol. Rev. 20, 117 - 196 (1968)

MESSINA E. J., WEINER R., KALEY G.

Inhibition of bradykinin vasodilation and potentiation of norepinephrine and angiotensin vasocontriction by inhibitors of prostaglandin synthesis in skeletal muscle of the rat
Circ. Res. 37, 430 - 437 (1975)

MUIRHEAD E. E., BROOKS B., BROSIUS W. L.
Indomethacin and blood pressure control
J. Lab. Clin. Med. 88, 578 - 583 (1976)

MURPHY R. A.
Structural proteins in the myofilaments and regulation of contraction in vertebrate smooth muscle
Fed. Proc. 35, 1302 - 1306 (1976)

NAMM D. H., LEADER J. P.
Occurrence and function of cyclic nucleotides in blood vessels
Blood Vessels 13, 24 - 47 (1976)

NEEDLEMAN P., MARSHALL G. R., Johnson E. M.
Determinants and modification of adrenergic and vascular resistance in the kidney
Am. J. Physiol. 227, 665 - 669 (1974)

NORTHOVER B. J.
The effect of anti-inflammatory drugs on vascular smooth muscle
Br. J. Chemother. 31, 483 - 493 (1967)

NORTHOVER B. J.
The effect of drugs on the constriction of isolated depolarized blood vessels in response to calcium or barium
Br. J. Pharmac. 34, 417 - 428 (1968)

NORTHOVER B. J.
Mechanism of the inhibitory action of indomethacin on smooth muscle
Br. J. Pharmac. 41, 540 - 551 (1971)

NORTHOVER B. J.

The effects of indomethacin on calcium, sodium, potassium and magnesium fluxes in various tissues of the guinea-pig

Br. J. Pharmac. 45, 651 - 659 (1972)

NORTHOVER B. J.

Effect of anti-inflammatory drugs on the binding of calcium to cellular membranes in various human and guinea-pig tissues

Br. J. Pharmac. 48, 496 - 504 (1973)

NOWAK J., WENNMALM A.

Influence of indomethacin and of prostaglandin E_1 on total and regional blood flow in man

Acta physiol. scand. 102, 484 - 491 (1978)

PANCZENKO B., GRODZINSKA L., GRYGLEWSKI R.

The dual action of meclofenamate on the contractile response to PG $F_{2\alpha}$ in the guinea-pig trachea

Pol. J. Pharmacol. Pharm. 27, 273 - 276 (1975)

PATAK R. V., MOKERJEE B. K., BENTZEL C. J., HYSERT P. E., BABEJ M., LEE J. B.

Antagonism of the effects of furosemide by indomethacin in normal and hypertensive man

Prostaglandins 10, 649 - 659 (1975)

PAULSON D. J., EVERSOLE W. J.

Effects of prostaglandin E_2 and prostaglandin inhibitors on adrenal regeneration hypertension

Amer. J. Physiol. 232, E95 - E99 (1977)

PEIPER U., GRIEBEL L., WENDE W.
Activation of vascular smooth muscle of rat aorta by noradrenaline and depolarization : two different mechanisms
Pflügers Arch. 330, 74 - 89 (1971)

PUGSLEY D. J., BEILIN L. J., PETO R.
Renal prostaglandin synthesis in the Goldblatt hypertensive rat
Circ. Res. 36 (Suppl. I), 81 - 88 (1975)

REINICKE C., PETER U., SOBECK G., TANNER E., JILEK B.
Untersuchungen zu Arzneimittelinteraktionen in der Therapie rheumatischer Krankheiten
I. Pharmakokinetisches Verhalten von Indometazin vor und nach Phenylbutazonbehandlung beim Menschen und bei Ratten
Zbl. Pharm. 116, 227 - 238 (1977)

RIOUX F., QUIRION R., REGOLI D.
The role of prostaglandins in hypertension
I. The release of prostaglandins by aorta strips of renal DOCA-salt, and spontaneously hypertensive rats
Can. J. Physiol. Pharmacol. 55, 1330 - 1338 (1977)

RIOUX F., REGOLI D.
In vitro production of prostaglandins by isolated aorta strips of normotensive and hypertensive rats
Can. J. Physiol. Pharmacol. 53, 673 - 677 (1975)

ROBISON G. A., SUTHERLAND E. W.
Sympathin E, sympathin I and the intracellular level of cyclic AMP
Circ. Res. 26 (Suppl. I), 147 - 161 (1970)

ROMERO J. C., AGUILO J. J., STRONG C. G.
Effects of indomethacin blockade of prostaglandin synthesis in rabbit renovascular hypertension
Circulation 52 (Suppl. II), 124 (1975)

ROMERO J. C., STRONG C. G [1]
Hypertension and the interrelated renal circulatory effects of prostaglandins and the renin-angiotensin system
Mayo Clin. Proc. 52, 462 - 464 (1977)

ROMERO J. C., STRONG C. G. [2]
The effect of indomethacin blockade of prostaglandin synthesis on blood pressure of normal rabbits and rabbits with renovascular hypertension
Circ. Res. 40, 35 - 41 (1977)

SCHMIDT E., PEIPER U.
Einfluß der Vordehnung auf die Dynamik der glatten Gefäßmuskulatur
Pflügers Arch. 333, 314 - 325 (1972)

SCHÖLKENS B. A.
Intensivierung experimenteller Hypertonie nach Prostaglandin-Biosynthese-Hemmung
Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforschg. 40, 196 - 201 (1974)

SHANES A. M.
Electrochemical aspects of physiological and pharmacological action in excitable cells. Part 2. The action potential and excitation
Pharmac. Rev. 10, 165 - 273 (1958)

SIEGERS C. P., STRUBELT O., SCHÜTT A.
Relations between hepatotoxicity and pharmacokinetics of paracetamol in rats and mice
Pharmacology 16, 273 - 278 (1978)

SOMLYO A. P., SOMLYO A. V.
Ultrastructure of smooth muscles
In: DANIEL E. E., Paton D. M.
Methods in pharmacology, Vol. 3
Smooth muscle
New York/London: Plenum Press 1975 (p 3 - 46)

SOMLYO A. V., SOMLYO A. P.
Electromechanical and pharmacomechanical coupling in Vascular smooth muscle
J. Pharmac. exp. Ther. 159, 129 - 145 (1968)

STASZEWSKA-BARCZAK J., VANE J. R.
The role of prostaglandins in the local control of circulation
Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. Suppl. 2, 71 - 78 (1975)

STONE K. J., MATHER S. J., GIBSON P. P.
Selective inhibition of prostaglandin biosynthesis by gold salts and phenylbutazone
Prostaglandins 10, 241 - 251 (1975)

SU C., BEVAN J. A.
Dissociation by SY-14 of potassium induced depolarization and contraction in vascular smooth muscle
Fed. Proc. 22, 308 (1963)

SWAIN J. A., HEYNDRICKX G. R., BOETTCHER D. H., VATNER S. F.
Prostaglandin control of renal circulation in the unanesthetized dog and baboon
Am. J. Physiol. 229, 826 - 831 (1975)

THOMSON J. S., PRESCOTT L. F.
Liver damage and impaired glucose tolerance after paracetamol overdosage
Brit. Med. J. 5512, 506 - 507 (1966/II)

TODA N., HATANO Y., HAYASHI S.
Modifications by stretches of the mechanical response of isolated cerebral and extracerebral arteries to vasoactive agents
Pflügers Arch. 374, 73 - 77 (1978)

TURNER R. A.
Screening methods in pharmacology, Vol. I
New York/London: Academic Press 1965

VANE J. R.
Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs
Nature New Biol. 231, 232 - 235 (1971)

VOLICER L, HYNIE S.
Effect of catecholamines and angiotensin on cyclic AMP in rat aorta and tail artery
Europ. J. Pharmacol. 15, 214 - 220 (1971)

WENNMALM A.
Differentiation of vasoconstrictor sensitivity caused by prostaglandin E in peripheral vascular beds of the rabbit
Acta physiol. scand. 100, 115 - 121 (1977)

WHITEHOUSE M. W.

Uncoupling of oxidative phosphorylation by some aryl acetic acids (anti-inflammatory or hypocholesterolemic drugs)

Nature 201, 629 - 630 (1964)

WOODBURY D. M., FINGL E.

Analgesic-antipyretics, anti-inflammatory agents, and drugs employed in the therapy of gout

in: Goodman L. S., Gilman A.

The pharmacological basis of therapeutics, 5th Ed.

New York/Toronto/London: MacMillan 1975 (p 325 - 358)

Frau Dr. Gerda Mannesmann danke ich für die Überlassung des Themas und für zahlreiche Anregungen und Ratschläge.

In gleicher Weise gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. H.-H. Frey für die Übernahme des Referates und für sein Interesse am Fortgang der Arbeit.

Frau Gabriele Gehrmann bin ich für die Mitarbeit bei der Durchführung der Versuche und der Anfertigung graphischer Arbeiten sowie Frau Heide Hölbüng für die Reinschrift der Dissertation zu Dank verbunden.

Weiterhin danke ich den Herren R. Meister und Dr. H. Wiemann für Beratung und Hilfe bei der Durchführung der statistischen Analysen.

LEBENSLAUF

18.10. 1943	geboren in Greifswald/Pommern
1949 - 1953	Besuch der St. Anna Volksschule in Augsburg
1953 - 1963	Besuch der Holbein-Oberrealschule in Augsburg
17. 7. 1963	Abitur
1964 - 1968	Studium der Volks- und Betriebswirtschaftslehre an der Universität München
1968 - 1973	Studium der Tiermedizin an der Universität München
6. 11. 1973	Staatsexamen
30.11. 1973	Bestallung als Tierarzt
seit 1. 1. 1974	tätig als wissenschaftlicher Mitarbeiter im Department Herz-Kreislauf-Pharmakologie der Schering AG